

程方圆, 周学永, 张家琛, 等. 阳离子对 Bt 蛋白在矿物表面吸附动力学的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1844–1849.

CHENG Fang-yuan, ZHOU Xue-yong, ZHANG Jia-chen, et al. Effects of cations on the adsorption kinetics of Bt protein on mineral surfaces[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(9): 1844–1849.

## 阳离子对 Bt 蛋白在矿物表面吸附动力学的影响

程方圆<sup>1</sup>, 周学永<sup>1\*</sup>, 张家琛<sup>1</sup>, 鲁伶兰<sup>2</sup>, 马锦明<sup>2</sup>

(1.天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300384; 2.天津市农药研究所, 天津 300400)

**摘要:**为了探讨金属阳离子对 Bt 蛋白在矿物表面吸附动力学的影响, 选取蒙脱石、高岭石、凹凸棒石和碳酸钙四种不同类型的矿物, 在 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>添加浓度均为 1 mmol·L<sup>-1</sup> 的条件下, 采用静态吸附法研究 Bt 蛋白的吸附动力学特征, 并采用一级动力学、二级动力学、内扩散和 Elovich 四种模型对动力学数据进行拟合, 依据相关系数和拟合吸附量对模型优劣进行评价。结果表明, Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>均对 Bt 蛋白的吸附有促进作用, 其作用强弱依次为 Ca<sup>2+</sup>>Mg<sup>2+</sup>>K<sup>+</sup>>Na<sup>+</sup>。模型分析结果表明: 二级动力学模型 R<sup>2</sup>>0.995 1, 由拟合模型计算得出的平衡吸附量与实测值吻合, 因此适合描述 Bt 蛋白的吸附动力学特征; Elovich 模型 R<sup>2</sup> 在 0.914 1~0.982 9 之间, 也能够较好描述矿物对 Bt 蛋白的吸附特性; 一级动力学模型 R<sup>2</sup> 在 0.710 8~0.987 6 之间, 相关系数分布范围过宽, 且由模型计算得出的平衡吸附量与实测值差异较大, 故不适合用于动力学特征描述; 内扩散模型相关系数低(R<sup>2</sup>>0.619 4), 不建议在 Bt 蛋白吸附动力学中使用。

**关键词:** 吸附动力学; 矿物; 阳离子

**中图分类号:** X53    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1672-2043(2017)09-1844-06    **doi:** 10.11654/jaes.2017-0172

### Effects of cations on the adsorption kinetics of Bt protein on mineral surfaces

CHENG Fang-yuan<sup>1</sup>, ZHOU Xue-yong<sup>1\*</sup>, ZHANG Jia-chen<sup>1</sup>, LU Ling-lan<sup>2</sup>, MA Jin-ming<sup>2</sup>

(1. Tianjin Engineering and Technology Research Center of Agricultural Products Processing, College of Food Science and Bioengineering, Tianjin Agriculture University, Tianjin 300384, China; 2. Tianjin Institute of Pesticides, Tianjin 300400, China)

**Abstract:** In order to better understand the influence of metal cations on the adsorption kinetics of *Bacillus thuringiensis* (Bt) protein on mineral surfaces, four types of minerals (montmorillonite, kaolinite, attapulgite, and calcium carbonate) were studied. The concentration of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and Ca<sup>2+</sup> was adjusted to 1 mmol·L<sup>-1</sup>, and the adsorption kinetics of Bt protein on the mineral surfaces were investigated using a static adsorption method. The kinetic data were analyzed and fitted to four models (first-order kinetics, second-order kinetics, internal diffusion, and Elovich), and the models were evaluated using the correlation coefficient and the fitted adsorption capacity. The adsorption of Bt protein was enhanced by Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and Ca<sup>2+</sup>, in the following order: Ca<sup>2+</sup>>Mg<sup>2+</sup>>K<sup>+</sup>>Na<sup>+</sup>. The second-order kinetic model showed a high correlation coefficient (R<sup>2</sup>>0.995 1), and the quantity of equilibrium adsorption calculated using the model was concordant with measured values. This model was chosen to describe the kinetic characteristics. The R<sup>2</sup> value of the Elovich model ranged from 0.914 1 to 0.982 9, indicating that the Elovich model can be used to describe the adsorption kinetics. The R<sup>2</sup> value of the first-order kinetic model ranged from 0.710 8 to 0.987 6, making it unsuitable to describe the adsorption kinetics, due to the wide distribution of R<sup>2</sup> and the large discrepancy between modeled and measured values for adsorption quantities. The internal diffusion model was not recommended to describe the adsorption kinetics of Bt protein due to the low correlation coefficient (R<sup>2</sup>>0.619 4).

**Keywords:** adsorption kinetics; minerals; cations

收稿日期: 2017-02-16

作者简介: 程方圆(1992—), 女, 河南安阳人, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与工程。E-mail: chengfangyuan163@163.com

\* 通信作者: 周学永 E-mail: zhouxueyongts@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470573, 31070478)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(31470573, 31070478)

苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)是一种广泛存在于土壤中的革兰氏阳性菌,在其芽孢形成过程中产生杀虫晶体蛋白<sup>[1]</sup>。自1987年Vaeck等<sup>[2]</sup>首次报道转Bt基因抗虫植物以来,转Bt基因棉花<sup>[3]</sup>、玉米<sup>[4]</sup>和茄子<sup>[5]</sup>相继实现商业化生产。我国自1997年开始种植Bt棉花,随着规模的不断扩大,目前种植面积已达370万hm<sup>2</sup>。近年来Bt杨树也开始种植,2015年栽培已达543hm<sup>2</sup><sup>[6]</sup>。

随着Bt作物种植面积的不断扩大,其环境安全性问题日益引起关注,Bt蛋白通过根系分泌、秸秆还田和花粉飘落<sup>[7]</sup>等方式释放到土壤,并迅速被矿物颗粒吸附<sup>[8]</sup>。一旦吸附完成,就能对微生物和酶的降解产生抗性,使持效期显著延长。由于Bt蛋白在土壤矿物表面吸附迅速,有关其动力学研究很少。刘洁等<sup>[9]</sup>研究了蒙脱石等四种矿物对Bt蛋白吸附的动力学,发现矿物性质、温度、pH对动力学特征有重要影响。近年的研究表明,除了温度、pH、矿物类型之外,离子强度也是影响Bt蛋白吸附的重要因素。刘宁等<sup>[10]</sup>研究了钠、钾离子对Bt蛋白在蒙脱石和凹凸棒石表面吸附和解吸的影响,证实钠、钾离子对Bt蛋白吸附有促进作用,且钾的影响稍高于钠。Fu等<sup>[11]</sup>研究了离子强度和倍半氧化物对Bt蛋白吸附的影响,证实低浓度范围内(<10mmol·kg<sup>-1</sup>)钠、钙离子均对Bt蛋白吸附有促进作用。然而Sander等<sup>[12]</sup>则观察到了相反结果,在pH>6的条件下,Bt蛋白在土壤有机质上的吸附随着离子强度的降低而增加。

截至目前,离子强度对Bt蛋白吸附动力学的影响尚无文献报道。本文选取蒙脱石、高岭石、凹凸棒石和碳酸钙四种不同类型的矿物,研究Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>四种阳离子对Bt蛋白吸附动力学的影响,并通过Bt蛋白、矿物表面电位变化对影响机制做出探讨,为环境风险评价提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

Bt库斯塔克亚种原粉由华中农业大学微生物农药国家工程中心提供,蒙脱石由浙江丰虹粘土化工有限公司提供,凹凸棒石由江苏省盱眙县华丰油田钻井液用材料厂提供,高岭石购自上海五四化学试剂有限公司,超细碳酸钙由山西芮城华纳纳米材料有限公司提供。氯化钠、氯化钾、氯化镁和氯化钙均为分析纯。

### 1.2 Bt蛋白提取

Bt蛋白的提取按照文献[10]进行。

### 1.3 金属阳离子对Bt蛋白吸附动力学的影响

Bt蛋白用Tris缓冲液(0.01mol·L<sup>-1</sup>,pH7.2)溶解,离心去除沉淀,取少量样品测定吸光度值,然后按照标准曲线计算其浓度。矿物预先配制成水悬液,吸附前离心管中预先加入金属盐溶液,并使其最终浓度为1mmol·L<sup>-1</sup>。Bt蛋白和矿物按质量比1:5加入离心管中,在25℃条件下进行振荡吸附,分别在1、2、4、6、8、10、20、30、60、100min进行高速离心(15000r·min<sup>-1</sup>,15min),取上清液在280nm测定吸光度,利用标准曲线计算Bt蛋白浓度,计算吸附量。同时做矿物空白和不添加金属离子的动力学实验。

### 1.4 金属阳离子对Bt蛋白和矿物表面电位的影响

将Bt蛋白用Tris缓冲液配成0.2mg·mL<sup>-1</sup>溶液,依次加入0、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0mmol·L<sup>-1</sup>金属盐溶液,混合后放置1h,用电泳淌度仪(Nano-ZS90, Malvern Instruments, UK)测定Bt蛋白Zeta电位,用于确定合适的离子添加浓度<sup>[13]</sup>。矿物粉体分别用蒸馏水配成水悬液(1mg·mL<sup>-1</sup>),然后与1mmol·L<sup>-1</sup>金属盐溶液混合放置1h,用电泳淌度仪测定Zeta电位。

### 1.5 Bt蛋白标准曲线的测定

Bt蛋白配成0.3mg·mL<sup>-1</sup>溶液,依次稀释为0.225、0.1875、0.15、0.1125、0.075、0.0375mg·mL<sup>-1</sup>,以Tris缓冲液作对照,在280nm处测定吸光度。以横轴为Bt蛋白浓度、纵轴为吸光度值绘制标准曲线。

### 1.6 动力学模型

#### 1.6.1 一级动力学模型<sup>[14]</sup>

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t$$

式中: $q_e$ 是吸附达到最终平衡时的最大吸附量,mg·mg<sup>-1</sup>;  $q_t$ 是在任意时刻测定的吸附量,mg·mg<sup>-1</sup>;  $k_1$ 是吸附平衡常数,min<sup>-1</sup>。

用 $\ln(q_e - q_t)$ 对 $t$ 作图得到直线,利用斜率可以求出 $k_1$ ,利用截距可以计算理论吸附量。

#### 1.6.2 二级动力学模型<sup>[14]</sup>

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}$$

式中: $k_2$ 是二级吸附平衡常数,mg·mg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。

利用 $t/q_t$ 对 $t$ 作图得到直线,利用斜率可以求出理论吸附量,再用截距计算 $k_2$ 。

#### 1.6.3 内扩散模型<sup>[14]</sup>

$$q_t = k_{id} t^{0.5} + C$$

式中: $k_{id}$ 是内扩散速率常数,mg·min<sup>-0.5</sup>。

用 $q_t$ 对 $t^{0.5}$ 作图得到直线,利用斜率可以求出 $k_{id}$ 。

### 1.6.4 Elovich 模型<sup>[15]</sup>

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t$$

式中： $\alpha$ 、 $\beta$  均为吸附常数。

用  $q_t$  对  $\ln t$  作图得到直线。

### 1.7 统计分析

运用 SPSS 软件对吸附数据进行统计分析，并比较差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 金属阳离子对 Bt 蛋白在蒙脱石表面吸附动力学的影响

$\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  对 Bt 蛋白在蒙脱石表面吸附动力学的影响如图 1 所示。吸附体系不添加金属离子时，Bt 蛋白吸附平衡时间为 20 min；当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}^+$  或  $\text{K}^+$  时，吸附速率较无离子添加相差不大，经 30 min 吸附趋于平衡。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Mg}^{2+}$  或  $\text{Ca}^{2+}$  时，吸附速率急剧增加，且  $\text{Ca}^{2+}$  对 Bt 蛋白吸附的促进程度超过  $\text{Mg}^{2+}$ 。统计分析结果表明： $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  均对 Bt 蛋白吸附有极显著影响 ( $P < 0.01$ )，且二者之间存在显著差异 ( $P < 0.01$ )； $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  对 Bt 蛋白吸附有显著影响，但二者之间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 金属阳离子对 Bt 蛋白在凹凸棒石表面吸附动力学的影响

$\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  对 Bt 蛋白在凹凸棒石表面吸附动力学影响如图 2 所示。吸附体系不添加金属离子时，Bt 蛋白在凹凸棒石上的吸附特性与在蒙脱石上相似，20 min 吸附即趋于平衡。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}^+$  或  $\text{K}^+$  时，吸附速率较无离子添加时提高，且  $\text{K}^+$  的提高程度大于  $\text{Na}^+$ 。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Mg}^{2+}$  或  $\text{Ca}^{2+}$  时，2 min

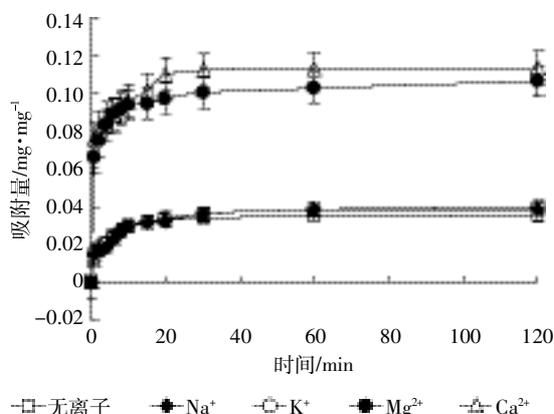


图 1 金属阳离子对 Bt 蛋白在蒙脱石表面吸附动力学影响  
Figure 1 Effects of metal cations on the adsorption kinetics of Bt protein on montmorillonite

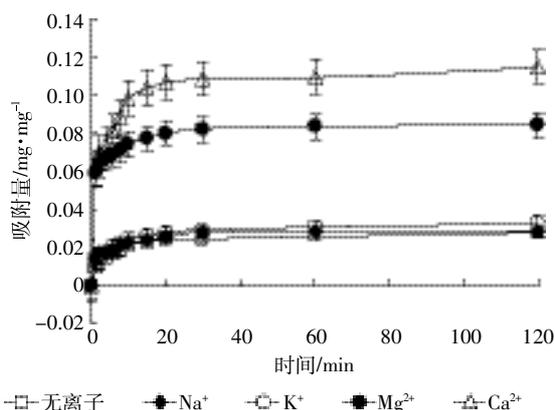


图 2 金属阳离子对 Bt 蛋白在凹凸棒石表面吸附动力学影响  
Figure 2 Effects of metal cations on the adsorption kinetics of Bt protein on attapulgite

后吸附速率分别增加 6.3 倍和 7.0 倍，且  $\text{Ca}^{2+}$  的促进作用大于  $\text{Mg}^{2+}$ 。统计分析结果表明： $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  均对 Bt 蛋白吸附有极显著影响 ( $P < 0.01$ )，且二者之间差异显著； $\text{K}^+$  对 Bt 蛋白吸附有显著影响，且与  $\text{Na}^+$  之间存在显著性差异； $\text{Na}^+$  对 Bt 蛋白吸附无显著影响 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 金属阳离子对 Bt 蛋白在高岭石表面吸附动力学的影响

$\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  对 Bt 蛋白在高岭石表面吸附动力学影响如图 3 所示。吸附体系不添加金属离子时，Bt 蛋白在高岭石表面的吸附 60 min 后趋于平衡，平衡时间较蒙脱石、凹凸棒石延长。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}^+$  或  $\text{K}^+$  离子时，初始吸附速率较不添加金属离子明显加快，平衡时间缩短至 30 min，但  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  之间差别不大。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Mg}^{2+}$  时，2 min 后吸附速率增加 15.9 倍，30 min 后趋于平衡。 $\text{Ca}^{2+}$  对 Bt 蛋白吸附的

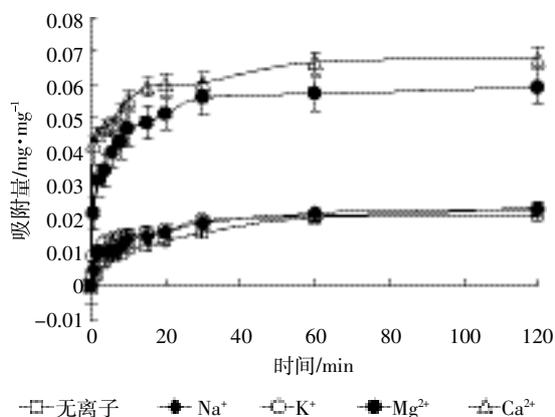


图 3 金属阳离子对 Bt 蛋白在高岭石表面吸附动力学影响  
Figure 3 Effects of metal cations on the adsorption kinetics of Bt protein on kaolinite

促进作用大于  $Mg^{2+}$ , 与不添加金属离子相比, 2 min 后吸附速率增加 22.7 倍, 20 min 出现短暂的平衡后, 至 60 min 时吸附又有小量增加。统计分析结果表明:  $Ca^{2+}$  对 Bt 蛋白吸附有极显著影响 ( $P < 0.01$ ),  $Mg^{2+}$  有显著影响 ( $P < 0.05$ ),  $Na^+$ 、 $K^+$  无显著影响。

#### 2.4 金属阳离子对 Bt 蛋白在碳酸钙表面吸附动力学的影响

$Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  对 Bt 蛋白在碳酸钙表面吸附动力学影响如图 4 所示。吸附体系不添加金属离子时, Bt 蛋白在碳酸钙表面的吸附 20 min 趋于平衡。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} Na^+$  时, 吸附速率较无离子添加时加快, 30 min 吸附达到平衡, 吸附速率提高 1.5 倍。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} K^+$  时, 吸附速率较  $Na^+$  添加进一步加快, 至 30 min 吸附达到平衡时, 吸附速率提高 1.9 倍。当添加  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} Mg^{2+}$  时, 吸附速率较一价离子添加明显加快, 30 min 后吸附速率提高 3.3 倍。 $Ca^{2+}$  对 Bt 蛋白吸附的影响明显超过  $Mg^{2+}$ , 前 10 min 吸附速率急剧增加, 此后呈缓慢增加趋势, 至吸附实验结束时, 仍未出现明显的平衡拐点。统计分析结果表明:  $Na^+$  对 Bt 蛋白吸附有显著影响, 而  $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  三种离子则有极显著影响 ( $P < 0.01$ ), 且彼此之间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

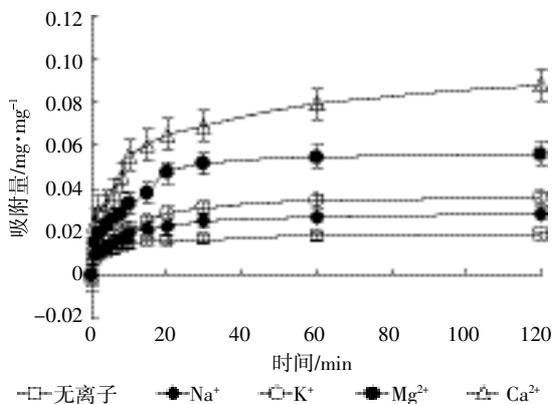


图 4 金属阳离子对 Bt 蛋白在碳酸钙表面吸附动力学影响  
Figure 4 Effect of metal cations on the adsorption kinetics of Bt protein on calcium carbonate

#### 2.5 吸附动力学参数分析

Bt 蛋白在四种矿物表面的吸附数据经过一级动力学模型拟合,  $R^2$  在 0.710 8~0.987 6 之间(表 1), 四种金属离子的影响顺序为:  $Ca^{2+} > Mg^{2+} > K^+ > Na^+$ 。依据相关性的知识判断, 该模型基本能够反映 Bt 蛋白的吸附动力学特性<sup>[14]</sup>。但模型计算得出的平衡吸附量与实测值出入较大, 故该模型拟合效果并不理想。

二级动力学模型拟合的  $R^2$  在 0.995 1~0.999 9 之

表 1 一级动力学模型拟合结果

Table 1 Fitting results of the first order kinetics model

矿物类型	离子类型	速率常数/ $\text{min}^{-1}$	平衡吸附量 $q/\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$		$R^2$
			实测值	模型值	
凹凸棒石	无	0.039 9	0.027 5	0.012 5	0.784 2
	$Na^+$	0.059 6	0.028 4	0.011 4	0.926 7
	$K^+$	0.036 1	0.033 3	0.015 4	0.898 9
	$Mg^{2+}$	0.059 5	0.084 3	0.020 5	0.951 7
	$Ca^{2+}$	0.039 8	0.114 9	0.034 5	0.710 8
高岭石	无	0.065 0	0.020 9	0.020 7	0.958 7
	$Na^+$	0.039 4	0.023 2	0.015 3	0.985 4
	$K^+$	0.039 2	0.023 1	0.012 7	0.937 0
	$Mg^{2+}$	0.048 4	0.059 4	0.025 6	0.888 5
	$Ca^{2+}$	0.048 8	0.067 9	0.023 7	0.965 0
蒙脱石	无	0.067 9	0.035 3	0.014 5	0.908 9
	$Na^+$	0.067 0	0.038 8	0.022 6	0.986 0
	$K^+$	0.049 5	0.039 9	0.020 4	0.954 3
	$Mg^{2+}$	0.035 2	0.106 7	0.024 2	0.820 4
	$Ca^{2+}$	0.070 8	0.113 6	0.032 1	0.898 5
碳酸钙	无	0.054 9	0.018 4	0.008 7	0.965 0
	$Na^+$	0.045 9	0.028 1	0.016 1	0.952 7
	$K^+$	0.053 2	0.035 6	0.025 5	0.987 6
	$Mg^{2+}$	0.060 4	0.056 1	0.040 3	0.965 5
	$Ca^{2+}$	0.033 0	0.088 1	0.055 7	0.931 9

间(表 2)。该模型不仅相关系数高, 而且由模型计算得出的平衡吸附量与实测值非常接近, 故拟合效果理想。内扩散及 Elovich 模型的动力学模型拟合结果见表 3。内扩散模型的  $R^2$  在 0.619 4~0.898 0 之间, 相关性较低, 表明该模型拟合效果不够理想; 而 Elovich 模型的  $R^2$  在 0.914 1~0.982 9 之间, 相关性较高, 表明该模型拟合效果比较理想。

#### 2.6 金属阳离子对 Bt 蛋白和矿物表面电位的影响

$Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  浓度对 Bt 蛋白表面电位影响如图 5 所示。随着金属阳离子浓度提高, Bt 蛋白表面电位受一价离子影响较小, 其中  $K^+$  的影响较  $Na^+$  稍高。二价离子对 Bt 蛋白表面电位影响较大, 离子浓度达到  $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, Bt 蛋白表面电位急剧升高, 但当浓度超过  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 变化趋于平缓。总体比较,  $Ca^{2+}$  的影响程度高于  $Mg^{2+}$ 。

凹凸棒石、高岭石、蒙脱石、碳酸钙在水溶液中表面电位均为负值, 添加金属离子 ( $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 后, 表面电位均有不同程度的提高(图 6), 四种金属离子对矿物表面电位的影响有着一致的规律性, 即:  $Ca^{2+} > Mg^{2+} > K^+ > Na^+$ 。

表2 二级动力学模型拟合结果

Table 2 Fitting results of the second order kinetics model

矿物类型	离子类型	平衡吸附量 $q_e/\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}$		$k_2/$ $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	$R^2$
		实测值	模型值		
凹凸棒石	无	0.027 5	0.028 1	9.833 1	0.999 2
	Na <sup>+</sup>	0.028 4	0.029 0	15.080	0.999 6
	K <sup>+</sup>	0.033 3	0.034 0	7.777 9	0.998 7
	Mg <sup>2+</sup>	0.084 3	0.085 1	9.942 3	0.999 9
	Ca <sup>2+</sup>	0.114 9	0.116 0	4.371 5	0.999 5
高岭石	无	0.020 9	0.022 8	4.148 9	0.995 1
	Na <sup>+</sup>	0.023 2	0.024 2	6.039 3	0.996 2
	K <sup>+</sup>	0.023 1	0.023 8	8.624 1	0.996 6
	Mg <sup>2+</sup>	0.059 4	0.060 6	5.749 1	0.999 7
	Ca <sup>2+</sup>	0.067 9	0.068 8	6.674 2	0.999 3
蒙脱石	无	0.035 3	0.036 0	13.165	0.999 8
	Na <sup>+</sup>	0.038 8	0.039 9	7.130 2	0.999 1
	K <sup>+</sup>	0.039 9	0.040 9	6.759 4	0.999 2
	Mg <sup>2+</sup>	0.106 7	0.107 2	6.577 8	0.999 6
	Ca <sup>2+</sup>	0.113 6	0.114 9	6.615 9	0.999 7
碳酸钙	无	0.018 4	0.018 8	18.46 4	0.999 5
	Na <sup>+</sup>	0.028 1	0.029 1	7.414 0	0.998 7
	K <sup>+</sup>	0.035 6	0.037 5	4.120 4	0.997 0
	Mg <sup>2+</sup>	0.056 1	0.059 1	2.833 1	0.996 5
	Ca <sup>2+</sup>	0.088 1	0.091 5	1.571 6	0.995 4

表3 内扩散及 Elovich 模型的动力学模型拟合结果

Table 3 Fitting results of the internal diffusion and Elovich kinetics model

矿物类型	离子类型	内扩散模型		Elovich 模型		
		$k_{in}/$ $\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$	$R^2$	$\frac{1}{\beta}\ln(\alpha\beta)$	$1/\beta$	$R^2$
凹凸棒石	无	0.001 8	0.717 5	0.009 4	0.004 2	0.940 1
	Na <sup>+</sup>	0.001 4	0.762 9	0.014 9	0.003 2	0.943 8
	K <sup>+</sup>	0.001 9	0.815 8	0.013 2	0.004 4	0.973 7
	Mg <sup>2+</sup>	0.002 5	0.748 1	0.059 4	0.005 9	0.953 9
	Ca <sup>2+</sup>	0.005 1	0.691 7	0.063 2	0.012 3	0.914 1
高岭石	无	0.001 9	0.884 5	0.001 5	0.004 2	0.976 3
	Na <sup>+</sup>	0.001 7	0.884 6	0.005 2	0.003 8	0.976 1
	K <sup>+</sup>	0.001 4	0.898 0	0.008 4	0.003 1	0.982 9
	Mg <sup>2+</sup>	0.003 4	0.725 0	0.025 2	0.008 1	0.954 0
	Ca <sup>2+</sup>	0.002 7	0.831 5	0.040 8	0.006 0	0.954 1
蒙脱石	无	0.002 0	0.619 4	0.015 7	0.005 0	0.906 7
	Na <sup>+</sup>	0.002 5	0.755 8	0.014 7	0.005 6	0.931 2
	K <sup>+</sup>	0.002 5	0.793 9	0.015 7	0.005 4	0.946 9
	Mg <sup>2+</sup>	0.003 4	0.705 6	0.072 6	0.007 9	0.957 3
	Ca <sup>2+</sup>	0.003 9	0.747 6	0.077 1	0.008 6	0.924 7
碳酸钙	无	0.001 0	0.761 0	0.008 2	0.002 4	0.964 7
	Na <sup>+</sup>	0.002 0	0.819 5	0.009 0	0.004 2	0.954 0
	K <sup>+</sup>	0.002 8	0.840 7	0.008 2	0.005 9	0.917 7
	Mg <sup>2+</sup>	0.004 5	0.817 7	0.013 3	0.009 5	0.918 2
	Ca <sup>2+</sup>	0.006 6	0.876 8	0.020 7	0.013 9	0.948 3

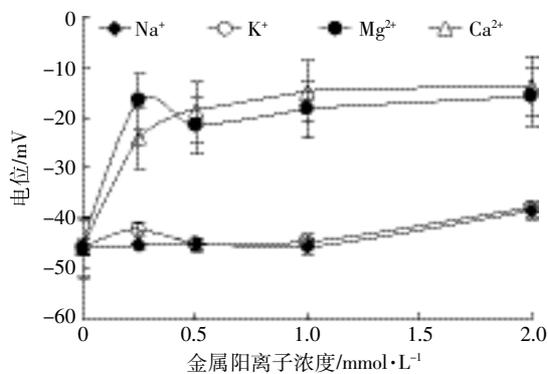


图5 不同浓度金属阳离子在 Bt 杀虫蛋白表面的电位

Figure 5 The potential of metal cations at different concentrations on the surfaces of Bt protein

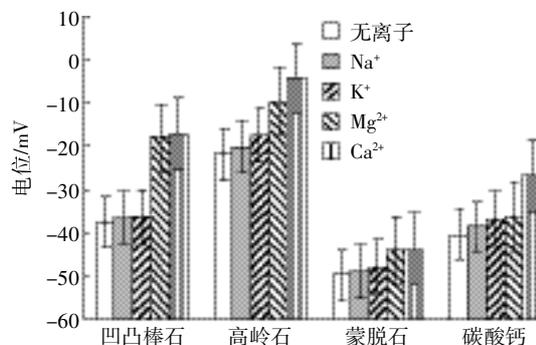


图6 金属离子对矿物表面电位影响

Figure 6 Effect of metal cations on the surface potential of mineral

### 3 讨论

金属离子促进 Bt 蛋白在矿物表面吸附的作用,是与矿物表面 Zeta 电位升高、胶体粒子团聚以及金属离子与 Bt 蛋白之间的螯合作用有关。首先,Bt 蛋白等电点在 5.5 左右<sup>[10]</sup>,在吸附条件下(pH7.2),Bt 蛋白和矿物表面均带负电荷,因此 Bt 蛋白分子与矿物粒子之间存在着电荷斥力。随着金属离子浓度的提高,Bt 蛋白和矿物表面的负电荷均朝着绝对值减小的方

向变化,导致斥力减小,吸附量增加。土壤胶体双电层厚度与金属离子价态的关系如古依-查普曼(Gouy-Chapman)模型所示<sup>[16]</sup>:

$$\frac{1}{K} = \left[ \frac{\epsilon_0 \epsilon k T}{2n_0 e^2 v^2} \right]$$

式中:1/K 为扩散双电层厚度, $\epsilon_0$  为真空介电常数, $\epsilon$  为水的介电常数, $k$  为玻尔兹曼常数, $T$  为绝对温度, $n_0$  为离子浓度, $e$  为单位电荷, $v$  为阳离子价态数。

当其他条件不变时,阳离子价态越高,扩散双电

层厚度越小,表面电势绝对值越低。对于同价离子而言,它们对胶体粒子Zeta电势的影响与离子水合半径有关。 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 水合离子半径分别为0.358、0.331、0.428、0.412 nm<sup>[17]</sup>,水合离子半径越大,扩散双电层厚度越大,Zeta电势绝对值越大。因 $\text{Na}^+$ 水合半径高于 $\text{K}^+$ , $\text{Mg}^{2+}$ 水合半径高于 $\text{Ca}^{2+}$ ,故 $\text{Na}^+$ 对Bt蛋白的促进作用低于 $\text{K}^+$ , $\text{Mg}^{2+}$ 对Bt蛋白的促进作用低于 $\text{Ca}^{2+}$ 。金属离子促进矿物吸附Bt蛋白的第二个原因,是矿物胶体粒子结构重排<sup>[18]</sup>。随着金属盐浓度的增加,矿物粒子双电层结构受到一定程度破坏,胶体粒子开始出现团聚现象,对Bt蛋白实行包裹或产生新的凹陷吸附位点,导致吸附量增加。此外,金属离子能够争夺Bt蛋白分子表面水化膜中的水分子,使Bt蛋白分子更易与矿物粒子接触,促进吸附发生。第三个原因则是钙镁二价金属离子可以与Bt蛋白形成螯合键,同时金属离子也容易被矿物吸附,从而使矿物与Bt蛋白之间形成盐桥<sup>[19]</sup>,导致吸附量增加。

#### 4 结论

$\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 对Bt蛋白在矿物表面吸附动力学有一定影响,添加金属离子后,Bt蛋白吸附量增大,金属阳离子作用强弱依次为: $\text{Ca}^{2+}>\text{Mg}^{2+}>\text{K}^+>\text{Na}^+$ 。Bt蛋白吸附动力学可用二级动力学模型和Elovich模型来描述,其中二级动力学模型拟合结果最好,由该模型计算得出的平衡吸附量与实测值吻合;Elovich模型 $R^2>0.914$ ,也能够较好描述动力学特征。一级动力学模型 $R^2$ 在0.7108~0.9876之间,相关系数分布范围太宽,且由模型计算得出的平衡吸附量与实测值差异较大,故不适合用于动力学特征描述;内扩散模型相关系数低( $R^2>0.6194$ ),不建议在Bt蛋白吸附动力学中使用。

#### 参考文献:

- [1] Jouzani G S, Valijanian E, Sharafi R. *Bacillus thuringiensis*: A successful insecticide with new environmental features and tidings[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(7):2691-2711.
- [2] Vaecck M A, Reynaerts H, Hofte J, et al. Transgenic plants protected from insect attack[J]. *Nature*, 1987, 328:33-37.
- [3] Yang Y, Li Y, Wu Y. Current status of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* after 15 years of Bt cotton planting in China[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2013, 106(1):375-381.
- [4] Etzold-Maxwell J L, Meinke L J, Gray M E, et al. Effect of Bt maize and soil insecticides on yield, injury, and rootworm survival: Implications for resistance management[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2013, 106(5):1941-1951.
- [5] Chakraborty T. Release of Bt-brinjal in bangladesh[J]. *Economic and Political Weekly*, 2014, 49(6):24-26.
- [6] James C. 2015 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J]. *中国生物工程杂志*, 2016, 36(4):1-11.  
James C. The global biotech /GM crops commercialization development situation in 2015[J]. *China Biotechnology*, 2016, 36(4):1-11.
- [7] Strain K E, Lydy M J. The fate and transport of the Cry1Ab protein in an agricultural field and laboratory aquatic microcosms[J]. *Chemosphere*, 2015, 132:94-100.
- [8] Stotzky G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2000, 29(3):691-705.
- [9] 刘 洁,胡红青,李慧姝,等. Bt蛋白在不同矿物上的吸附动力学及其影响因素研究[J]. *土壤学报*, 2010, 47(4):786-789.  
LIU Jie, HU Hong-qing, LI Hui-shu, et al. Kinetics of adsorption of the toxin of *Bacillus thuringiensis* on minerals and its affecting factors[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47(4):786-789.
- [10] 刘 宁,周学永,董庆洁,等. 钠、钾离子对Bt蛋白在蒙脱石和凹凸棒土表面吸附与解吸的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(4):786-790.  
LIU Ning, ZHOU Xue-yong, DONG Qing-jie, et al. Effects of sodium and potassium ion on the adsorption and desorption of Bt protein by montmorillonite and attapulgite[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(4):786-790.
- [11] Fu Q L, Peng Y W, Huang T, et al. Effects of ionic strength and sesquioxides on adsorption of toxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki on soils[J]. *Pedosphere*, 2012, 22(1):96-102.
- [12] Sander M, Tomaszewski J E, Madliger M, et al. Adsorption of insecticidal Cry1Ab protein to humic substances: 1. Experimental approach and mechanistic aspects[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(18):9923-9931.
- [13] Wang S Y, Chen K M, Li L, et al. Binding between proteins and cationic spherical polyelectrolyte brushes: Effect of pH, ionic strength, and stoichiometry[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(3):818-827.
- [14] Zaghouane-Boudiaf H, Boutahala M. Adsorption of 2, 4, 5-trichlorophenol by organo-montmorillonites from aqueous solutions: Kinetics and equilibrium studies[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 170(1):120-126.
- [15] Chien S H, Clayton W R. Application of Elovich equation to the kinetics of phosphate release and sorption in soils[J]. *Soils Science Society of American Journal*, 1980, 44(2):265-268.
- [16] Yukselen Y, Kama A. Zeta potential of kaolinite in the presence of alkali, alkaline earth and hydrolyzable metal ion[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2003, 145(1/2/3/4):155-168.
- [17] Nightingale Jr E R. Phenomenological theory of ion solvation: Effective radii of hydrated ions[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1959, 63(9):1381-1387.
- [18] Cione A P P, Schmitt C C, Neumann M G, et al. The effect of added salt on the aggregation of clay particles[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2000, 226(2):205-209.
- [19] Muchaonyerwa P, Chevallier T, Pantani O L, et al. Adsorption of the pesticide toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* on tropical soils and their particle-size fractions[J]. *Geoderma*, 2006, 133(3/4):244-257.