

Btk 杀虫蛋白在红壤和棕壤中的吸附热力学研究*

周学永^{1,3} 刘祥云² 董庆洁² 黄巧云^{3†} 刘惠芬¹ 丛方地¹ 崔新仪¹

(1 天津农学院食品科学系, 天津 300384)

(2 天津理工大学化学化工学院, 天津 300384)

(3 华中农业大学农业部亚热带农业资源与环境重点实验室, 武汉 430070)

摘要 采用平衡吸附法测定了苏云金芽胞杆菌库斯塔克亚种 (Btk) 蛋白在红壤和棕壤中的吸附等温线, 并依据等温线进行了吸附平衡常数和热力学参数计算。在 278K ~ 318K 范围内, Bt 杀虫蛋白在红壤和棕壤中的吸附等温线符合 Langmuir 方程 ($R^2 > 0.994$), 随着吸附温度升高, Bt 杀虫蛋白的吸附量和吸附平衡常数下降, 而吸附分离因子 R_L 升高。红壤吸附 Bt 蛋白的 R_L 值在 0.218 1 ~ 0.580 1 之间, 棕壤吸附 Bt 蛋白的 R_L 值在 0.361 7 ~ 0.754 1 之间, 均属于优惠吸附。Bt 杀虫蛋白在红壤和棕壤中的吸附是一个自发、放热、熵增过程, 红壤吸附 Bt 杀虫蛋白的活化能在 13.43 ~ 14.78 kJ mol⁻¹ 之间, 棕壤吸附 Bt 蛋白的活化能在 10.89 ~ 11.47 kJ mol⁻¹ 之间。随着温度升高, 活化能和吸附自由能绝对值变大, 提示土壤对 Bt 杀虫蛋白的吸附由物理吸附向化学吸附转变。

关键词 苏云金芽胞杆菌; 杀虫蛋白; 红壤; 棕壤; 吸附; 热力学

中图分类号 S154.1; S181 **文献标识码** A

苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, 简称 Bt) 是当今世界上应用最广的微生物杀虫剂, Bt 杀虫蛋白的表达原理已被广泛应用于转基因抗虫作物育种实践中^[1]。随着转 Bt 基因抗虫作物的大面积种植, 在发挥高效抗虫、降低防治成本方面起到了积极作用, 但与此同时, 转 Bt 基因作物引发环境风险的问题成为人们关注的焦点^[2-4]。转 Bt 基因作物表达的杀虫蛋白可通过根系分泌物、花粉或作物残茬等方式进入土壤。研究表明, Bt 杀虫蛋白很容易被土壤矿物吸附, 其吸附动力学符合 Elovich、二级扩散方程和抛物线扩散方程^[5], 一旦吸附完成就会对微生物和酶的分解产生抗性, 其杀虫活性可持续存在 180 d 或 234 d^[6]。Bt 杀虫蛋白的积累一旦超过了昆虫的消耗及环境因子对其的钝化, 就可能对非靶昆虫^[7]、土壤微生物^[8] 和土壤酶活性^[9] 造成影响而引发环境安全问题。Bt 杀虫蛋白可被各种土壤和矿物颗粒快速吸附, 且不易解吸^[10-12]。吸附后的 Bt 蛋白仍具有杀虫活性, 毒性与吸附前相当甚至高于游离态蛋白^[13]。温度对 Bt 杀虫蛋白吸附

的影响一般认为较小^[14-15], 相关研究长期未得到重视。近年来研究发现, Bt 杀虫蛋白在红壤胶体上的吸附量随温度的升高而降低^[13], 有关其吸附热力学的研究已引起科研人员的重视。研究不同温度下 Bt 蛋白的吸附平衡常数和吸附热力学特征, 有助于阐明 Bt 蛋白进入土壤后的存在状态, 并依据吸附自由能、活化能等参数进一步了解吸附机理, 为评价转 Bt 基因作物的环境风险提供科学依据。由于转 Bt 基因作物释放杀虫蛋白的周期包括作物生长和秸秆还田两个阶段, 气候条件涉及一年四季, 因此, 研究温度变化对 Bt 蛋白吸附的影响具有重要的实际意义。

1 材料与amp;方法

1.1 Btk 杀虫蛋白提取

Btk 工程菌株 (表达 CryIAc10 蛋白) 由华中农业大学农业微生物国家重点实验室提供。Btk 工程菌株发酵液经过离心 (26 000 g, 15 min) 去除上清液, 胞

* 国家自然科学基金项目 (31070478)、天津市自然科学基金重点项目 (08JCZDJC18800) 和天津农学院科研计划项目 (2008D016) 联合资助

† 通讯作者, E-mail: qyhuang@mail.hzau.edu.cn

作者简介: 周学永 (1966—), 男, 博士, 教授, 主要从事土壤生态学和转基因植物安全评价科研工作。E-mail: zhouxueyongts@163.com

收稿日期: 2011-05-18; 收到修改稿日期: 2011-08-10

晶混合物沉淀依次用 0.5 mol L^{-1} NaCl 和无菌去离子水洗 3 次, 然后用 Huber 缓冲液 (0.1 mol L^{-1} Na_2CO_3 -HCl, 含 25 mmol L^{-1} 二硫苏糖醇, pH9.5) 调成悬浮状, 37°C 水浴溶解 2 h。26 000 g 离心 15 min 去除不溶物, 清液以 25% 乙酸调至 pH4.4, 26 000 g 离心 10 min 得 Bt 杀虫蛋白沉淀, 分子量 66 kDa (SDS-PAGE 测定)。

1.2 土壤样品表征

供试红壤和棕壤分别采自湖南郴州和山东泰安。土壤比表面积 (specific surface area, SSA) 测定采用氮气吸附法, 利用比表面积测定仪 (ST-2000/ST-08A, 北京分析仪器公司) 测定。阳离子交换量 (cation exchange capacity, CEC) 测定采用乙酸铵交换法 (GB-7863-87), 有机质 (organic matter, OM) 测定采用重铬酸钾容量法-外加热法, 结果见表 1。

表 1 土壤样品基本特性

Table 1 Basic properties of the soil in test

样品	比表面积	有机质	阳离子交换量
Sample	SSA ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	OM (g kg^{-1})	CEC (cmol kg^{-1})
红壤 Red soil	48.5	28.4	21.2
棕壤 Brown soil	31.7	67.6	41.6

1.3 吸附等温线的测定

吸附等温线的测定实验分别在 278 K、298 K 和 318 K 条件下进行。土壤浓度为 0.5 g L^{-1} , Btk 杀虫蛋白初始浓度依次为 3.79×10^{-6} 、 7.58×10^{-6} 、 1.14×10^{-5} 、 $1.52 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, 充分混合后转入恒温摇床, 180 rmin^{-1} 振摇 3 h (足够达到吸附平衡)。取出吸附试管离心 15 min ($26\ 000 \text{ g}$), 280 nm 处测定上清液的吸光度。以纯 Bt 蛋白制备标准曲线, 根据吸附初始和吸附平衡时 Bt 蛋白浓度及混合液中土壤浓度计算吸附量。

1.4 吸附平衡常数的计算

二元稀溶液在固体表面的吸附可以看作是溶质分子取代吸附剂表面水分子的过程, 采用 Langmuir 方程计算吸附平衡常数^[16-17]。

$$\Gamma = \frac{\Gamma_{\max} bC}{1 + bC} \quad (1)$$

$$K_{\text{ads}} = 55.5b \quad (2)$$

式中, Γ 为吸附达到平衡时的吸附量, mol g^{-1} ; Γ_{\max} 为饱和吸附量, mol g^{-1} ; C 为吸附平衡时 Bt 杀虫蛋白浓度, mol L^{-1} ; K_{ads} 为吸附平衡常数, 无量纲; b 为 Langmuir 方程中与吸附有关的常数, 采用 Sigma-

Plot 软件对吸附等温线所包含的数据进行 Langmuir 方程拟合, 即可直接求出参数 b , L mol^{-1} ; 55.5 为水的摩尔浓度, mol L^{-1} 。

1.5 吸附分离因子的计算

吸附分离因子是描述吸附特征的一个无量纲参数, 用下式表示^[18-19]:

$$R_L = \frac{1}{1 + bC_0} \quad (3)$$

式中, R_L 为分离因子, 无量纲; b 为 Langmuir 方程中与吸附有关的常数, L mol^{-1} ; C_0 为吸附体系中 Bt 杀虫蛋白初始浓度, mol L^{-1} 。

1.6 吸附热力学参数的计算

吸附过程中标准吉布斯自由能 (ΔG_{ads}^0 , J mol^{-1})、标准吸附焓 (ΔH_{ads}^0 , J mol^{-1}) 和标准吸附熵 (ΔS_{ads}^0 , $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$) 分别用下列公式计算^[17]:

$$\Delta G_{\text{ads}}^0 = -RT \ln K_{\text{ads}} = -RT \ln (55.5b) \quad (4)$$

$$\ln K_{\text{ads}} = -\frac{\Delta H_{\text{ads}}^0}{RT} + \frac{\Delta S_{\text{ads}}^0}{R} \quad (5)$$

式中, R 为气体常数, $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$; T 为绝对温度, K ; K_{ads} 为吸附平衡常数, 无量纲; b 为 Langmuir 方程中与吸附有关的常数, L mol^{-1} 。

利用 $\ln K_{\text{ads}}$ 对 $1/T$ 做图得一直线, 利用斜率和截距分别计算吸附焓 ΔH_{ads}^0 和吸附熵 ΔS_{ads}^0 。

1.7 吸附活化能的计算

Bt 杀虫蛋白的吸附活化能用下式计算^[20]:

$$E = \frac{1}{\sqrt{-2K_E}} \quad (6)$$

式中, E 为吸附活化能, J mol^{-1} ; K_E 为与吸附能相关的参数, $\text{mol}^2 \text{J}^{-2}$, 由下式计算:

$$\ln \Gamma = \ln \Gamma_{\max} - K_E \varepsilon^2 \quad (7)$$

式中: ε 为波拉尼 (Polanyi) 势能, $\varepsilon = RT \ln (1 + 1/C)$, J mol^{-1} 。利用 $\ln \Gamma$ 对 ε^2 做图得一直线, 斜率即为 K_E 。

2 结果与讨论

2.1 红壤和棕壤对 Bt 杀虫蛋白的吸附等温线

Bt 杀虫蛋白在给定温度 (278 K、298 K 和 318 K) 下的吸附等温线如图 1 所示。Bt 杀虫蛋白在三个温度下的吸附等温线均符合 Langmuir 方程 ($R^2 > 0.9941$), 随着温度升高, Bt 杀虫蛋白吸附量下降。当吸附温度由 278 K 上升至 318 K 时, 红壤的饱和吸附量降低了 16.71%, 棕壤降低了 9.66% (表 2)。

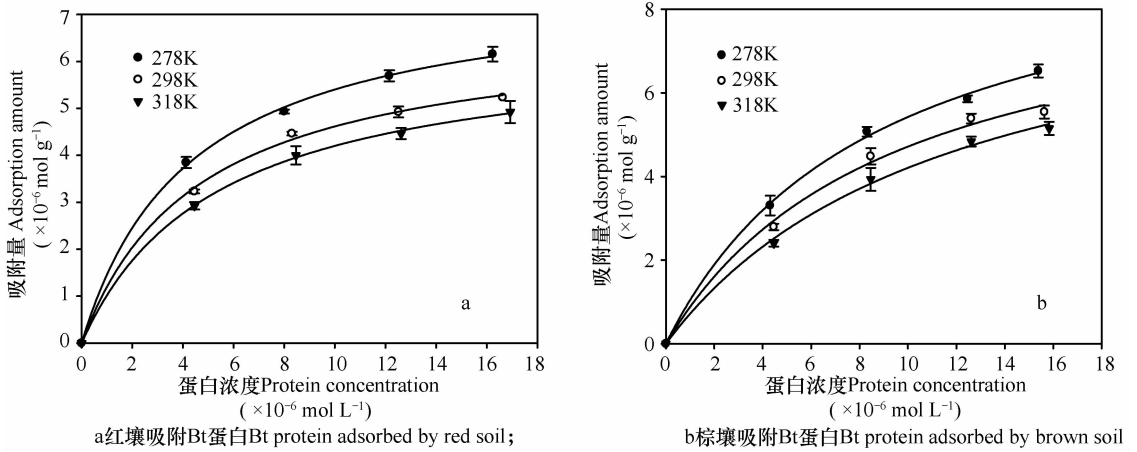


图1 红壤和棕壤对 Bt 蛋白吸附等温线

Fig. 1 Bt protein adsorption isotherms of red soil and brown soil

表2 吸附等温线拟合参数

Table 2 Fitting parameters for adsorption isotherm

样品 Sample	温度 Temperature (K)	b ($L \cdot mol^{-1}$)	饱和吸附量 Maximum adsorption amount ($mol \cdot g^{-1}$)	吸附平衡常数 Adsorption equilibrium constant K_{ads}
红壤 Red soil	278	2.33×10^5	7.72×10^{-6}	12.93×10^6
	298	2.16×10^5	6.75×10^{-6}	11.87×10^6
	318	1.88×10^5	6.43×10^{-6}	10.45×10^6
棕壤 Brown soil	278	1.15×10^5	10.15×10^{-6}	6.31×10^6
	298	1.07×10^5	9.13×10^{-6}	5.88×10^6
	318	0.85×10^5	9.17×10^{-6}	4.71×10^6

由表2可见,红壤和棕壤对 Bt 杀虫蛋白的吸附平衡常数均随着温度的升高而下降(红壤下降 19.18%,棕壤下降 25.36%)。相比较而言,红壤的吸附平衡常数高于棕壤。

2.2 红壤与棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的分离因子

在 278 K ~ 318 K 之间,红壤与棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的分离因子(R_L)列于表3。 R_L 通常用于分析等温吸附的类型: $R_L > 1$ 属于非优惠吸附; $0 < R_L < 1$ 属于优惠吸附; $R_L = 1$ 属于线性吸附; $R_L = 0$ 属于不可逆吸附^[18-19]。由表3可见,红壤吸附 Bt 蛋白的 R_L 值在 0.218 1 ~ 0.580 1 之间,棕壤吸附 Bt 蛋白的 R_L 值在 0.361 7 ~ 0.754 1 之间,均属于优惠吸附。 R_L 值的大小与 Bt 浓度、吸附温度有关,当温度固定时, R_L 随蛋白初始浓度升高而下降,而当 Bt 杀虫蛋白浓度恒定时, R_L 随温度的升高而增大。

2.3 红壤和棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的热力学特征

Bt 杀虫蛋白在红壤和棕壤中的吸附热力学常数见表4。在 278 K ~ 318 K 之间,吸附自由能(ΔG_{ads}^0)

表3 红壤和棕壤吸附 Bt 蛋白的分离因子

Table 3 Separation factor constant of Bt protein adsorbed on red soil and brown soil

温度 Temperature (K)	Bt 蛋白初始浓度 Initial concentration of Bt protein ($mol \cdot L^{-1}$)	分离因子 Separation factor R_L	
		红壤 Red soil	棕壤 Brown soil
278	3.846×10^{-6}	0.5274 ± 0.0133	0.6939 ± 0.0060
	7.692×10^{-6}	0.3581 ± 0.0123	0.5313 ± 0.0071
	11.54×10^{-6}	0.2711 ± 0.0106	0.4304 ± 0.0069
298	15.39×10^{-6}	0.2181 ± 0.0091	0.3617 ± 0.0061
	3.846×10^{-6}	0.5462 ± 0.0127	0.7086 ± 0.0108
	7.692×10^{-6}	0.3757 ± 0.0122	0.5488 ± 0.0129
318	11.54×10^{-6}	0.2864 ± 0.0107	0.4477 ± 0.0130
	15.39×10^{-6}	0.2313 ± 0.0093	0.3781 ± 0.0124
	3.846×10^{-6}	0.5801 ± 0.0029	0.7541 ± 0.0003
318	7.692×10^{-6}	0.4086 ± 0.0030	0.6052 ± 0.0003
	11.54×10^{-6}	0.3153 ± 0.0026	0.5055 ± 0.0131
	15.39×10^{-6}	0.2567 ± 0.0023	0.4339 ± 0.0106

均为负值,表示 Bt 蛋白在两种土壤中的吸附均为自发过程。随着温度升高, ΔG_{ads}^0 绝对值增加,即自发趋势增大。一般认为,吸附自由能的绝对值 $< 40 \text{ kJ mol}^{-1}$ 为物理吸附^[21]。由表 4 可知,当温度由 278K 增加到 318K 时,红壤吸附 Bt 蛋白的 ΔG_{ads}^0 由 $-37.85 \text{ kJ mol}^{-1}$ 增加至 $-42.73 \text{ kJ mol}^{-1}$,棕壤吸附 Bt 蛋白的 ΔG_{ads}^0 由 $-36.21 \text{ kJ mol}^{-1}$ 增加至 $-40.62 \text{ kJ mol}^{-1}$,提示当吸附温度达到 298K (红壤)或 318K (棕壤)以上时,土壤对 Bt 杀虫蛋

白的吸附由物理吸附向化学吸附过渡。

Bt 杀虫蛋白在红壤和棕壤中的吸附焓均为负值,吸附熵均为正值,表明该吸附为放热、熵增过程。有文献报道蛋白吸附是熵驱动过程^[22],本研究中 Bt 杀虫蛋白的吸附焓为负值,吸附熵为正值,由吸附自由能与吸附焓、吸附熵之间的关系 ($\Delta G_{ads}^0 = \Delta H_{ads}^0 - T\Delta S_{ads}^0$) 可知, Bt 杀虫蛋白在红壤和棕壤中的吸附属于焓、熵共同驱动过程。

表 4 红壤和棕壤对 Bt 蛋白吸附热力学常数

Table 4 Thermodynamic parameters of Bt protein adsorption on red soil and brown soil

样品 Sample	温度 Temperature (K)	ΔG_{ads}^0 (kJ mol ⁻¹)	ΔH_{ads}^0 (kJ mol ⁻¹)	ΔS_{ads}^0 (J mol ⁻¹ K ⁻¹)
红壤 Red soil	278	-37.85 ± 0.12	-3.89 ± 0.74	122.26 ± 2.18
	298	-40.38 ± 0.13		
	318	-42.73 ± 0.32		
棕壤 Brown soil	278	-36.21 ± 0.65	-5.48 ± 0.53	110.79 ± 1.77
	298	-38.64 ± 0.13		
	318	-40.62 ± 0.36		

注: ΔG_{ads}^0 为吸附自由能, ΔH_{ads}^0 为吸附焓, ΔS_{ads}^0 为吸附熵 Note: ΔG_{ads}^0 is adsorption free energy, ΔH_{ads}^0 is adsorption enthalpy, ΔS_{ads}^0 is adsorption entropy

2.4 红壤和棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的活化能

红壤和棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白过程中,吸附量对

数 ($\ln \Gamma$) 对波拉尼势能平方 (ϵ^2) 做图得一直线 (图 2), 活化能等特征参数计算见表 5。

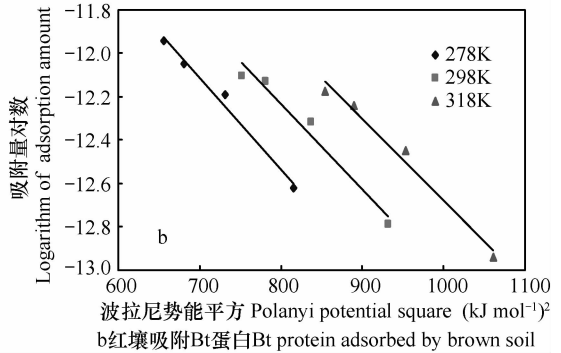
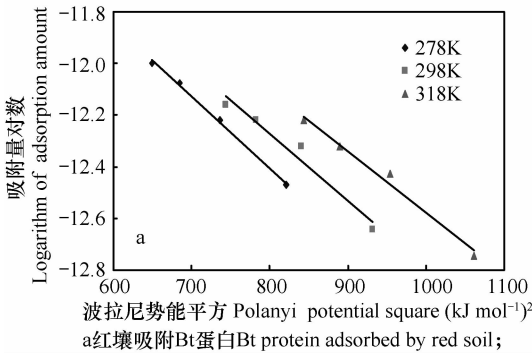


图 2 Bt 蛋白吸附量对数与波拉尼势能平方的关系

Fig. 2 Relationship between the logarithm of Bt protein adsorption and Polanyi potential square

表 5 红壤和棕壤吸附 Bt 蛋白的活化能

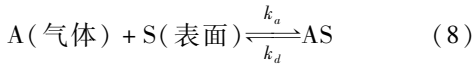
Table 5 Activation energy of Bt protein adsorbed by red soil and brown soil

样品 Sample	温度 Temperature (K)	参数 K_E ($\times 10^{-9} \text{ mol}^2 \text{ J}^{-2}$)	活化能 E (kJ mol ⁻¹)
红壤 Red soil	278	-2.77 ± 0.14	13.43 ± 0.72
	298	-2.56 ± 0.12	13.96 ± 0.66
	318	-2.39 ± 0.11	14.78 ± 0.71
棕壤 Brown soil	278	-4.22 ± 0.27	10.89 ± 0.68
	298	-3.93 ± 0.20	11.28 ± 0.56
	318	-3.77 ± 0.31	11.47 ± 0.91

红壤吸附 Bt 杀虫蛋白的活化能在 $13.43 \sim 14.78 \text{ kJ mol}^{-1}$ 之间,棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的活化能在 $10.89 \sim 11.47 \text{ kJ mol}^{-1}$ 之间。随着温度升高,吸附活化能增大,这与吸附自由能的变化趋势一致。根据报道^[20],吸附活化能在 $8 \sim 16 \text{ kJ mol}^{-1}$ 之间为离子交换机理。在本研究中红壤和棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的活化能均在此范围内,提示有离子交换机理存在。

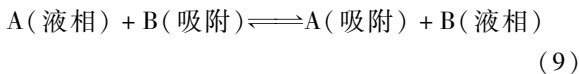
3 讨 论

Langmuir 方程已被广泛用于液-固吸附过程中吸附平衡常数的计算,但经典 Langmuir 方程是由气体在纯净固体表面发生吸附这一假定前提下推导得出的^[23],在吸附达到平衡之前,固体吸附剂表面存在空白位点,气体分子可以直接与空白位点结合而不与其他被吸附分子发生交换:



式中, k_a 为吸附速率常数, h^{-1} ; k_d 为解吸速率常数, $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ 。

经典 Langmuir 方程所描述的吸附过程与二元稀溶液中的液-固吸附过程是不同的。二元稀溶液中的溶质分子在与固体吸附剂接触之前,吸附剂表面已形成溶剂化膜,此时,溶质分子的吸附可以视为体相溶液中溶质分子与吸附层中被吸附的溶剂分子发生交换的结果^[16,23],即



当吸附达到平衡时,平衡常数 K_{ads} 可用下式表示:

$$K_{ads} = \frac{N_{A\text{吸附}} C_{B\text{液相}}}{C_{A\text{液相}} N_{B\text{吸附}}} \quad (10)$$

式中, C_A 、 C_B 分别为溶质和溶剂在体相溶液中的摩尔浓度, mol L^{-1} ; N_A 、 N_B 分别为溶质、溶剂在液-固界面吸附层中的摩尔分数, $N_A + N_B = 1$ 。

令 $b = K_{ads}/C_B$, 同样可以推导得出 Langmuir 方程的表达式:

$$n_A = \frac{n_{\max} b C_A}{1 + b C_A} \quad (11)$$

式中, n_A 为溶质 A 吸附达到平衡时的吸附量 ($n_A = N_A \times n_{\max}$), mol g^{-1} ; n_{\max} 为溶质 A 的饱和吸附量, mol g^{-1} ; b 为与吸附有关的常数, L mol^{-1} 。

近年来仍有文献将 Langmuir 方程中的 b 当作吸附平衡常数使用^[24-25],这是不够严谨的。由式(11)可知,由 Langmuir 方程中直接求得的常数 b 并不是无因次的物理量,其单位等于溶质浓度的倒数,因此,不能用 b 代替吸附平衡常数进行热力学计算。赵振国^[26]指出,用 Langmuir 方程中的 b 代替吸附平衡常数进行热力学参数计算虽不影响对吸附规律的判定,但结果并不正确,在液-固吸附中应充分考虑溶质分子与溶剂分子发生交换所产生的

影响。在本文中,吸附活化能在 $8 \sim 16 \text{ kJ mol}^{-1}$ 之间,提示有离子交换机理存在,更进一步证实了式(1)和式(11)的可靠性。由于稀溶液中溶剂浓度与纯溶剂相近,如果溶剂是水,则 $C_B \approx 55.5 \text{ mol L}^{-1}$ ^[17]。

本研究中红壤和棕壤的比表面积虽然相差不大,但棕壤的阳离子交换容量和有机质含量却较红壤高 1 倍左右。在相同温度下,棕壤对 Bt 蛋白的饱和吸附容量高于红壤,这一实验结果表明离子交换在吸附中发挥了重要作用。此外,有机质含量也是二者在吸附能力方面存在差异的原因。前期研究表明,土壤中有有机质能够提高 Bt 蛋白的吸附量^[27], Bt 蛋白分子中的极性功能团能够与有机质中的多酚聚合物发生不可逆结合^[28]。

4 结 论

Bt 杀虫蛋白在红壤和棕壤中的吸附符合 Langmuir 方程 ($R^2 > 0.9941$),该吸附属于自发、放热、熵增过程。随着吸附温度升高 ($278 \text{ K} \sim 318 \text{ K}$),吸附量和吸附平衡常数下降,但自发趋势增强。红壤吸附 Bt 杀虫蛋白的分离因子 R_L 值在 $0.2181 \sim 0.5801$ 之间,棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的 R_L 值在 $0.3617 \sim 0.7541$ 之间,均属于优惠吸附。红壤吸附 Bt 杀虫蛋白的活化能在 $13.43 \sim 14.78 \text{ kJ mol}^{-1}$ 之间,棕壤吸附 Bt 杀虫蛋白的活化能在 $10.89 \sim 11.47 \text{ kJ mol}^{-1}$ 之间。随着温度升高,活化能和吸附自由能的绝对值变大,提示土壤对 Bt 杀虫蛋白的吸附由物理吸附向化学吸附转变。

参 考 文 献

- [1] Miethling-Graff R, Dockhorn S, Tebbe C C. Release of the recombinant Cry3Bb1 protein of Bt maize MON88017 into field soil and detection of effects on the diversity of rhizosphere bacteria. *European Journal of Soil Biology*, 2010, 46(1): 41—48
- [2] Kim Y H, Kim H, Lee S, et al. Effects of Bt transgenic Chinese cabbage pollen expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin on the non-target insect *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombyxidae) larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2008, 11(2): 107—110
- [3] 张美俊, 杨武德. 转 Bt 基因棉叶对土壤微生物多样性的影响. *中国生态农业学报*, 2010, 18(2): 307—311. Zhang M J, Yang W D. Effect of transgenic Bt cotton leaves on soil microbial community diversity (In Chinese). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(2): 307—311
- [4] 汪海珍, 徐建明, 谢正苗. 转基因作物在土壤环境中的残留及其对土壤生物的影响. *土壤*, 2005, 37(4): 370—374. Wang H Z, Xu J M, Xie Z M. Residues of transgenic plants in soil and

- impact on soil organisms (In Chinese). *Soils*, 2005, 37(4): 370—374
- [5] 刘洁, 胡红青, 李慧妹, 等. Bt 蛋白在不同矿物上的吸附动力学及其影响因素研究. *土壤学报*, 2010, 44(4): 786—789. Liu J, Hu H Q, Li H S, et al. Kinetics of adsorption of the toxin of *Bacillus thuringiensis* of adsorption of the toxin and affecting factors (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 44(4): 786—789
- [6] Stotzky G. Persistence and biological activity in soil of insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* and of bacterial DNA bound on clays and humic acids. *Journal of Environment Quality*, 2000, 29: 691—705
- [7] 李孝刚, 刘标, 曹伟, 等. 不同种植年限转基因抗虫棉对土壤中小型节肢动物的影响. *土壤学报*, 2011, 48(3): 587—593. Li X G, Liu B, Cao W, et al. Effects of transgenic insect-resistant cotton plants different in planting age on soil meso- and microarthropods (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48(3): 587—593
- [8] Kapur M, Bhatia R, Pandey G, et al. Case study for assessment of microbial community dynamics in genetically modified Bt cotton crop fields. *Current Microbiology*, 2010, 61(2): 118—124
- [9] 万小羽, 梁永超, 李忠佩, 等. 种植转 Bt 基因棉对土壤生物学活性的影响. *生态学报*, 2007, 27(12): 5 414—5 419. Wan X Y, Liang Y C, Li Z P, et al. Effect of planting transgenic Bt cotton on soil enzymatic and microbial activities (In Chinese). *Acta Adsasa Ecologica Sinica*, 2007, 27(12): 5 414—5 419
- [10] 周学永, 高建保, 蔡鹏, 等. Bt 毒素在三种矿物表面的吸附与解吸. *应用生态学报*, 2008, 19(5): 1 144—1 148. Zhou X Y, Gao J B, Cai P, et al. Adsorption and desorption of Bt toxin on three kinds of minerals (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(5): 1 144—1 148
- [11] 付庆灵, 向爱华, 胡红青, 等. 乙酸盐对几种地带性土壤吸附 Bt 毒素的影响. *土壤学报*, 2008, 45(6): 1 208—1 211. Fu Q L, Xiang A H, Hu H Q, et al. Effect of acetate on adsorption of *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxin by several zonal soils in central and south China (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(6): 1 208—1 211
- [12] Zhou X Y, Huang Q Y, Cai P, et al. Adsorption and insecticidal activity of toxin of *Bacillus thuringiensis* on rectorite. *Pedosphere*, 2007, 17(4): 513—521
- [13] 周学永, 高建保, 蔡鹏, 等. Btk 蛋白在红壤胶体上的吸附解吸行为及其对杀虫活性的影响. *土壤学报*, 2009, 46(3): 480—487. Zhou X Y, Gao J B, Cai P, et al. Adsorption and desorption of Btk proteins on red soil colloids and their insecticidal activity of conjunct Btk proteins (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46(3): 480—487
- [14] Venkateswerlu G, Stotzky G. Binding of protoxin and toxin proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on clay minerals. *Current Microbiology*, 1992, 25: 225—233
- [15] Zhou X Y, Huang Q Y, Chen S W, et al. Adsorption of the insecticidal protein of *Bacillus thuringiensis* on montmorillonite, kaolinite, silica, goethite and red soil. *Applied Clay Science*, 2005, 30: 87—93
- [16] 赵振国. Langmuir 方程在稀溶液吸附中的应用. *大学化学*, 1999, (5): 7—11. Zhao Z G. Application of Langmuir equation for adsorption in dilute solution (In Chinese). *University Chemistry*, 1999, (5): 7—11
- [17] Bentiss F, Lebrini M, Lagrenée M. Thermodynamic characterization of metal dissolution and inhibitor adsorption processes in mild steel /2,5-bis (n-thienyl)-1,3,4-thiadiazoles/ hydrochloric acid system. *Corrosion Science*, 2005, 47: 2 915—2 931
- [18] Kamaria A, Ngahb W S W. Isotherm, kinetic and thermodynamic studies of lead and copper uptake by H₂SO₄ modified chitosan. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, 73: 257—266
- [19] Webi T W, Chakravort R K. Pore and solid diffusion models for fixed-bed adsorbers. *AIChE Journal*, 1974, 20(2): 228—238
- [20] Kilislioglu A, Bilgin B. Thermodynamic and kinetic investigations of uranium adsorption on amberlite IR-118H resin. *Applied Radiation and Isotopes*, 2003, 58: 155—160
- [21] 魏瑞霞, 陈金龙, 陈连龙, 等. 2-噁吩乙酸在三种不同树脂上的吸附热力学和动力学研究. *高等学校化学学报*, 2004, 25(11): 2 095—2 098. Wei R X, Chen J L, Chen L L, et al. Adsorption thermodynamics and kinetics of 2-thiopheneacetic acid on three types of resin (In Chinese). *Chemical Journal of Chinese University*, 2004, 25(11): 2 095—2 098
- [22] Lee S H, Ruckenstein E. Adsorption of proteins onto polymeric surface of different hydrophilicities-A case study with bovine serum albumin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 1988, 125(2): 365—379
- [23] Tao Z, Chu T. On the applicability of the Langmuir equation to estimation of adsorption equilibrium constants on a powdered solid from aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2000, 231: 8—12
- [24] Unuabonah E I, Adebowale K O, Olu-Owolabi B I, et al. Adsorption of Pb (II) and Cd (II) from aqueous solutions onto sodium tetraborate-modified Kaolinite clay: Equilibrium and thermodynamic studies. *Hydrometallurgy*, 2008, 93: 1—9
- [25] 张再利, 况群, 贾晓珊. 花生壳吸附 Pb²⁺、Cu²⁺、Cr³⁺、Cd²⁺、Ni²⁺ 的动力学和热力学研究. *生态环境学报*, 2010, 19(12): 2 973—2 977. Zhang Z L, Kuang Q, Jia X S. Study on the kinetics and thermodynamics of Pb²⁺, Cu²⁺, Cr³⁺, Cd²⁺, Ni²⁺ adsorption onto peanut hull. *Ecology and Environmental Science*, 2010, 19(12): 2 973—2 977
- [26] 赵振国. 吸附作用应用原理. 北京: 化学工业出版社, 2005: 295—308. Zhao Z G. Principle and application of adsorption (In Chinese). Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 295—308
- [27] Muchaonyerwa P, Chevallier T, Pantani O L, et al. Adsorption of the pesticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebriosis* on tropical soils and their particle-size fractions, *Geoderma*, 2006, 133: 244—257
- [28] Pagel-Wiedera S, Niemeyer J, Fischer W R, et al. Effects of physical and chemical properties of soils on adsorption of the insecticidal protein (Cry1Ab) from *Bacillus thuringiensis* at Cry1Ab protein concentrations relevant for experimental field sites. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39: 3 034—3 042

ADSORPTION THERMODYNAMICS OF BTK INSECTICIDAL PROTEIN IN RED SOIL AND BROWN SOIL

Zhou Xueyong^{1,3} Liu Xiangyun² Dong Qingjie² Huang Qiaoyun^{3†} Liu Huifen¹ Cong Fangdi¹ Cui Xinyi¹

(1 Department of Food Science, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384, China)

(2 College of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China)

(3 Key Laboratory of Subtropical Agricultural Resources and Environment, Ministry of Agriculture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract Adsorption isotherms of the insecticidal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) in red soil and brown soil were determined using the equilibrium adsorption method. Based on the isotherms, their adsorption equilibrium constants and thermodynamic parameters were calculated. Results show that in the range between 278K and 318K, the Btk protein adsorption isotherms in red soil and brown soil followed the Langmuir equation ($R^2 > 0.994$), showing that Bt adsorption and adsorption equilibrium constant decreased with rising temperature, but separation factor constant (R_L) increased in the range of 0.218 1 ~ 0.580 1 in red soil and of 0.361 7 ~ 0.754 1 in brown soil, indicating that both were of preferential adsorption. Btk protein adsorption in the two soils was a spontaneous, exothermic, entropy-increasing process. In red soil the activation energy of adsorbed Btk protein ranged from 13.43 ~ 14.78 kJ mol⁻¹, while in brown soil it did from 10.89 ~ 11.47 kJ mol⁻¹. Under rising temperature, it increased along with adsorption free energy, which suggests that the adsorption of Btk protein by the soils is turning from a physical process into a chemical one.

Key words *Bacillus thuringiensis*; Insecticidal protein; Red soil; Brown soil; Adsorption; Thermodynamics