

# 有潜在性的大孔吸附树脂模拟植物根系 分泌有机酸吸附的方法

杨建峰<sup>1</sup>, 贺立源<sup>1</sup>, 左雪冬<sup>1</sup>, 吴照辉<sup>1</sup>, 门玉英<sup>1</sup>, 徐才国<sup>2</sup>

(1. 华中农业大学 资源与环境学院 湖北 武汉 430070; 2. 华中农业大学 作物遗传改良国家重点实验室, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 为探索一种根系分泌物富集的方法, 用静态吸附法, 通过研究 HPD-400 型大孔吸附树脂对水溶液中柠檬酸、苹果酸和酒石酸的吸附行为, 模拟大孔吸附树脂对根系分泌物收集液中主要有机酸吸附的结果表明, 相同条件下, HPD-400 型大孔吸附树脂对 3 种有机酸的吸附强度依次为柠檬酸> 苹果酸> 酒石酸; 它对各有机酸的吸附能力随各有机酸浓度的升高而增加, 随温度的降低而增加; 对各有机酸的吸附均符合 Freundlich 等温吸附方程, 且表现为优惠吸附。试验表明, 用 HPD-400 型大孔吸附树脂可作为根系分泌物的富集材料。

**关键词:** HPD-400 型大孔吸附树脂; 吸附; 有机酸

**中图分类号:** Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2007)03-0127-05

## A Potential Method of Simulation of Adsorption Behavior of the Macroporous Resin for Root Exudates of Organic Acids

YANG Jian-feng<sup>1</sup>, HE Li-yuan<sup>1</sup>, ZUO Xue-dong<sup>1</sup>,  
WU Zhao-hui<sup>1</sup>, MEN Yu-ying<sup>1</sup>, XU Cai-guo<sup>2</sup>

(1. College of Resource and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. National Key Laboratory in Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** In order to search a concentrated method of root exudates of organic acids, simulating the adsorption of macroporous resin for the main exudates of organic acids, the static adsorption behavior of the HPD-400 macroporous resin for citric, malic and tartaric acid in aqueous solution was studied. The results of the test showed: on the same condition, the order of adsorption capacities of the HPD-400 macroporous resin for organic acids were citric, malic and tartaric acid; Lowering the temperature was in favor of adsorption as well as heightened the concentration of organic acids; Isotherm adsorption curves of organic acids by the HPD-400 macroporous resin were all well fitted to the Freundlich adsorption isotherm equation. The experiments indicated that HPD-400 macroporous resin could be used as the concentrated material of root exudates of organic acids.

**Key words:** HPD-400 macroporous resin; Adsorption; Organic acid

植物根系分泌有机物是对生态环境的一种适应, 而根系分泌物中的低分子量有机酸占很大比重<sup>[1]</sup>。植物根系在养分胁迫或重金属逆境条件下会大量分泌一系列有机酸, 如柠檬酸、苹果酸、酒石酸、琥珀酸、草酸等, 在特殊情况下, 还分泌特有的有机酸, 其中研究柠檬酸、苹果酸和酒石酸的较多。研究根系分泌物对于明确和协调植物和环境之间的关系有重要的理论和实践意义<sup>[2]</sup>。

收集植物分泌的有机酸是研究根系分泌有机酸的必需环节。目前的收集方法主要采用水培培育植株<sup>[3]</sup>, 根据不同的试验目的选用不同的收集方法, 具体收集方法有原位收集法<sup>[4]</sup>、收集根洗液法、树脂膜法、循环水根系分泌物收集法<sup>[5]</sup>等, 其中, 除原位收集法外, 收集根洗液法也是较为常用的一种方法。但此种方法中根系分泌的有机酸会被培养溶液大量稀释, 收集液体积大、浓度低, 范围在 0.1~300

收稿日期: 2007-03-01

基金项目: 国家“973”项目(G1998010204)

作者简介: 杨建锋(1979-), 男, 山西临汾人, 硕士研究生, 主要从事植物非生物逆境生理生化方面的研究。

mg/L<sup>[6, 7]</sup>, 为此必须进行减压浓缩或冷冻干燥等前处理, 才能进行后续测定, 既需要专门设备, 又有能量消耗, 而且周期长、误差大, 难以满足研究需要。大孔吸附树脂是一种内部呈交联网状结构的珠状体, 具有优良的孔性结构和比表面积, 主要用于吸收各种有机物质, 近十年来, 树脂在吸附有机酸和醇中的应用引起了人们的重视。此项技术具有适用范围宽、实用性强, 吸附容量高、脱附再生容易, 树脂性能稳定、使用寿命长, 便于综合利用、变废为宝, 操作简便、无二次污染等特点。但国内吸附树脂主要应用于天然植物中活性成分(如皂昔、黄酮、内脂、生物碱等大分子化合物)的提取分离, 在污水处理中也有成功的应用<sup>[8]</sup>, 但对微量有机酸组分的吸附少有报道。

本研究就大孔吸附树脂对柠檬酸、苹果酸、酒石酸等几种微量有机酸的静态吸附行为分别进行了探讨, 探索一种根系分泌物富集的方法, 也为进一步研究大孔吸附树脂在根系分泌物富集中的作用提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 树脂与试剂

在对 HPD-300 和 HPD-400 型大孔吸附树脂、HPD-900 型弱碱性阴离子交换树脂进行初步研究基础上, 本试验选用了 HPD-400 型大孔吸附树脂(沧州宝恩化工有限公司生产), 其呈大孔交联网状, 粒度

表 1 有机酸吸附试验处理

Tab 1 Experimentation treatments of organic acids adsorption

方法 Means	恒温处理/℃ Isothermal treatment	有机酸处理浓度/(mg/25 mL) Concentration of organic acids	吸附时间/h Adsorptive time
吸附动力学 Kinetics of adsorption	25	12.5	2, 4, 8, 12
吸附等温线 Sorption isotherms	25, 35, 55	5, 10, 15, 20, 25	12

称取大孔吸附树脂置于 250 mL 塑料瓶中, 采用恒温水浴振荡机按照表 1 处理实施。各处理重复 3 次, 处理完成后, 过滤, 以蒸馏水为参比, 用紫外可见分光光度计, 选择检验波长为 216 nm 条件下, 测量各有机酸水溶液吸光度值(A), 计算、转换成吸附量(q<sub>e</sub>)。

本试验采用富集系数 F 比较树脂对有机酸的吸附能力, 按下式计算:

$$F = \frac{\text{树脂吸附有机酸数量 (mg/g)}}{(\text{加入有机酸的数量} - \text{树脂吸附有机酸数量}) (\text{mg/mL})}$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 HPD-400 型树脂对各有机酸的静态吸附

2.1.1 HPD-400 型树脂对各有机酸的静态吸附平衡时间的吸附量比较 试验获得的数据及统计分析情况参见表 2。方差分析表明, 柠檬酸、酒石酸和苹

(粒径 0.3~ 1.2 mm) ≥90%, 平均孔径 75~ 80, 比表面 500~ 550 m<sup>2</sup>/g, 中极性。大孔吸附树脂预处理为, 用 95% 的乙醇浸泡 4 h 以上, 过滤出一定体积滤液, 加等体积的双蒸水, 充分摇匀后观察是否浑浊, 若浑浊说明未洗干净, 要继续浸泡, 直到滤液和水体积比为 1:1 的溶液不浑浊为止, 然后放在 60℃ 恒温真空干燥器中烘干。大孔吸附树脂再生处理为, 将使用过的树脂先用水洗数次, 继而用 95% 的乙醇洗脱至无色, 树脂即已再生, 然后以大量水洗去醇, 即可进行下一次的提取分离。经反复使用后, 吸附树脂颜色变深, 吸附效果下降时, 用 0.01~ 1.00 mol/L NaOH(或 HCl) 洗涤或浸泡适当时间, 至树脂接近原颜色为宜, 用蒸馏水洗至中性即可再用。柠檬酸、DL-苹果酸、酒石酸均为分析纯。

### 1.2 试验仪器

主要试验仪器: THZ-C 型恒温振荡器、恒温真空干燥器、UNICAM 紫外可见分光光度计(波长 216 nm 处测定柠檬酸、苹果酸和酒石酸水溶液的最低浓度分别为 8.97, 32.16 和 38.52 g/mL)。

### 1.3 试验设计与检测

本试验主要考察大孔吸附树脂的静态吸附特征, 分别采用吸附动力学曲线和吸附等温线测定方法, 大孔吸附树脂用量均为 0.5 g, 有机酸处理包括不同浓度的柠檬酸、苹果酸和酒石酸溶液, 溶液用量都是 25 mL, 具体处理如下。

果酸的不同处理时间之间的 F 值分别为: 49.32, 87.24, 168.55, 均达极显著水平(F<sub>0.01</sub> = 9.78)。

HPD-400 型大孔吸附树脂对有机酸的吸附能力随平衡时间和有机酸的种类而异, 在处理时间达到 8 h 时, 几种有机酸的吸附均趋于平衡, 对柠檬酸和苹果酸的吸附量显著大于酒石酸。按照处理浓度计算, 平衡时间 2 h 时, 大孔树脂对柠檬酸、酒石酸和苹果酸的富集系数分别为 2.10, 1.62 和 2.08, 到达吸附平衡时(12 h), 分别达到 11.68, 4.04, 8.17。说明供试大孔吸附树脂对低浓度有机酸具有良好的吸附、富集能力。

表 2 结果还显示, HPD-400 型大孔吸附树脂对 3 种有机酸吸附量重复之间的相对标准偏差最大为 6.92%, 反映吸附有机酸的稳定性较差, 这可能源自树脂粒度对吸附效果的的影响。在一般应用中, 粒

径约为 0.25~ 0.50 mm, 粒度小有效接触面积大, 吸附效率高, 反之则吸附效率低<sup>[9]</sup>。不过大孔吸附树脂对各有机酸吸附量的相对标准偏差均低于7%, 这

对于生物试验中根系分泌物收集液中浓度相对低的有机酸而言, 影响不大。

表 2 3 种有机酸不同吸附平衡时间的吸附量比较

Tab 2 Adsorption of three kinds organic acids were compared at different adsorption equilibrium time									
平衡时间 / h Equilibrium time	柠檬酸 Citric acid			酒石酸 Tartaric acid			苹果酸 Malic acid		
	平均吸附量 / (mg/g) Average adsorption	相对标准偏差 / % The relative standard deviation	显著性检验 Significant differentiation	平均吸附量 / (mg/g) Average adsorption	相对标准偏差 / % The relative standard deviation	显著性检验 Significant differentiation	平均吸附量 / (mg/g) Average adsorption	相对标准偏差 / % The relative standard deviation	显著性检验 Significant differentiation
2	0.97	6.53	D	0.76	6.92	D	0.96	3.97	D
4	2.26	1.86	C	1.09	6.80	C	2.25	3.41	C
8	3.48	4.83	AB	1.31	7.04	AB	2.91	0.00	AB
12	3.98	5.27	A	1.74	6.17	A	3.08	5.19	A

2.1.2 HPD-400 型树脂对各有机酸的静态吸附动力学曲线 各有机酸的吸附动力学曲线见图 1。由图 1 可以看出, 相同条件下, HPD-400 型大孔吸附树脂对各有机酸静态吸附能力的顺序依次为: 柠檬酸 > 苹果酸 > 酒石酸; 各有机酸吸附达到平衡的时间相差不大, 均在 8 h 左右。

树脂对其吸附力也随之增加。HPD-400 型大孔吸附树脂属中极性树脂, 3 种有机酸中柠檬酸的分子量最大, 所以 HPD-400 型大孔吸附树脂对其吸附量最大, 其他 2 种酸分子量接近, 但苹果酸极性较大, HPD-400 型大孔吸附树脂对其吸附量也较大。

随吸附时间延长, 8 h 左右的 HPD-400 型大孔吸附树脂对 3 种有机酸的吸附量逐渐趋于稳定, 说明树脂对有机酸的吸附达到饱和, 这与吸附树脂对大量有机物组分的吸附规律一致。

2.2 HPD-400 型树脂对各有机酸的静态吸附等温曲线

于上述操作条件下, 加入 25 mL 不同浓度的柠檬酸、苹果酸、酒石酸溶液。在 298, 308 和 328 K 温度下, 在恒温振荡器中恒速振荡 12 h, 以确保达到吸附平衡。分析各有机酸溶液的初始浓度  $C_0$  (mg/mL) 和平衡浓度  $C_e$  (mg/mL), 根据公式计算平衡吸附量:  $q_e$  (mg/g) =  $(C_0 - C_e)V/m$ 。其中  $V$  为加入的有机酸溶液体积 (mL),  $m$  是加入树脂的质量 (g)。

根据 HPD-400 型树脂对各酸吸附达到平衡时各酸的平衡浓度 (mg/mL) 和平衡吸附量 (mg/g) 作出静态吸附等温曲线(图 2)。

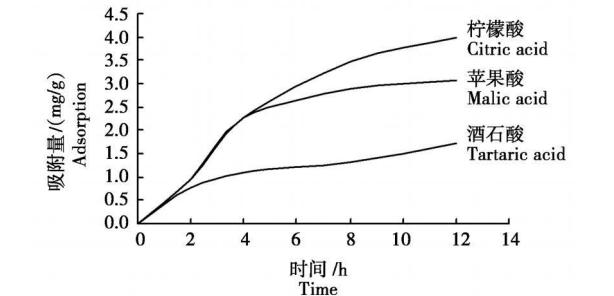


图 1 3 种有机酸的吸附动力学曲线

Fig 1 The kinetic curve of adsorption of three kinds organic acids

大孔树脂的吸附性能主要取决于吸附剂的表面性质, 即树脂的极性(功能基)和空间结构(孔径、比表面积、孔容), 被吸附化合物的分子量大小和极性的强弱直接影响到吸附效果<sup>[10]</sup>, 同一种树脂对分子量大的化合物吸附作用较大。化合物的极性增加时,

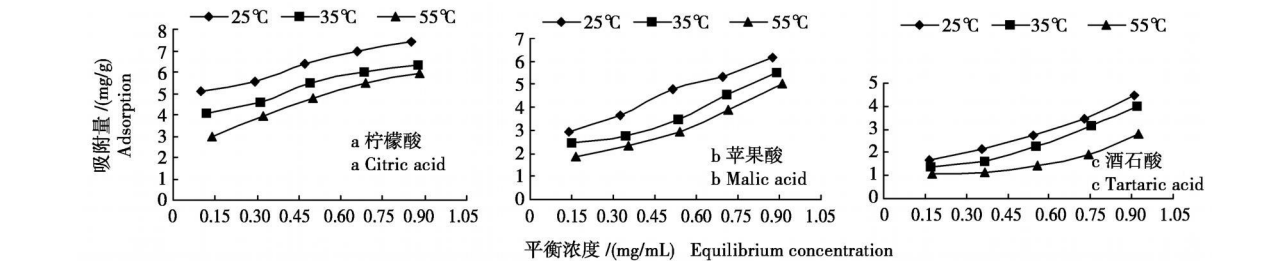


图 2 3 种有机酸的等温吸附曲线

Fig 2 The isotherm adsorption of three kinds organic acids

从图 2 可以看出, 相同条件下, HPD-400 型大孔吸附树脂对每种有机酸的吸附量均随供试有机酸浓度的增加而增加。韩金玉等<sup>[11]</sup>的研究表明, AB-8

树脂对银杏总内酯的吸附率先随浓度的增加而增加, 达到一定值后再随浓度增加而减小, 而总吸附量则随浓度的增大而增大, 达到一定值后基本不再变

化, 本研究结果与此结论相同。这是因为, 随着浓度的增加, 被吸附的有机酸分子之间通过羟基发生相互作用, 产生协同吸附效应, 因而树脂吸附有机酸的能力得以增强<sup>[12]</sup>。黄建明等<sup>[13]</sup>的研究表明, 如果被吸附物质的原液浓度过低和提纯时间增加, 则效率降低; 原液浓度过高则泄漏早, 处理量小, 树脂的

再生周期短。可见被吸附物质浓度的大小直接影响树脂对其的吸附效果以及树脂再生, 从而也影响试验成本。

根据经典的吸附经验方程式 Freundlich 方程:  $\log(q_e) = \log(k_f) + 1/n \log(C_e)$ , 对试验数据进行拟合分析, 结果如表 3。

表 3 Freundlich 方程对 3 种有机酸在 HPD-400 树脂上的吸附等温线的拟合

Tab. 3 Precisely fitting the isotherm adsorption of three kinds organic acids at HPD-400 macroporous resin by Freundlich equation						
有机酸 Organic acid	温度/K Temperature	回归方程 Regression equation	K <sub>f</sub>	n	R <sup>2</sup>	
柠檬酸 Citric acid	298	$\log(q_e) = 0.2754\log(C_e) - 0.2233$	0.597 9	3.631 0	0.998	
	308	$\log(q_e) = 0.3156\log(C_e) - 0.3013$	0.499 6	3.168 5	0.997	
	328	$\log(q_e) = 0.4040\log(C_e) - 0.3779$	0.418 8	2.476 4	0.996	
苹果酸 Malic acid	298	$\log(q_e) = 0.3217\log(C_e) - 0.261 8$	0.5473	3.108 4	0.996	
	308	$\log(q_e) = 0.3930\log(C_e) - 0.316 9$	0.482 2	2.544 5	0.996	
	328	$\log(q_e) = 0.4703\log(C_e) - 0.3533$	0.443 3	2.126 3	0.996	
酒石酸 Tartaric acid	298	$\log(q_e) = 0.4883\log(C_e) - 0.2780$	0.527 2	2.047 9	0.996	
	308	$\log(q_e) = 0.5405\log(C_e) - 0.432 1$	0.369 7	1.850 1	0.996	
	328	$\log(q_e) = 0.7165\log(C_e) - 0.7865$	0.163 8	1.395 6	0.997	

注: K<sub>f</sub> 吸附平衡常数; 1/n 为非线性系数; R<sup>2</sup> 为相关系数  
Note: K<sub>f</sub> adsorption equilibrium constants, 1/n the nonlinear coefficient, R<sup>2</sup> the correlation coefficient

由表 3 可看出, 相关系数 R<sup>2</sup> 都大于 0.995, 说明 HPD-400 型大孔吸附树脂对 3 种有机酸的吸附均符合 Freundlich 吸附等温方程, 属于多分子层吸附。根据 Freundlich 理论, Freundlich 常数 K<sub>f</sub> 可用于表示吸附能力的相对大小。前面已经述及, 每种有机酸的 K<sub>f</sub> 值均随着温度的升高而减小, 表明降低温度有利于吸附。这是由于柠檬酸、苹果酸、酒石酸均为有机弱酸, 温度升高增加它们在水中的电离度, 以及随温度的升高有机分子在水中的运动强度增大, 致使 HPD-400 型大孔吸附树脂对其吸附强度降低。

从 3 种有机酸的 K<sub>f</sub> 值可以看出, 相同条件下的 HPD-400 型大孔吸附树脂对它们的吸附能力顺序依次为柠檬酸> 苹果酸> 酒石酸。拟合得到的各有机酸的 n> 1, 表明 HPD-400 型大孔吸附树脂吸附各有机酸的过程均为优惠吸附过程。Kunio 等<sup>[14]</sup>认为, 1/n 与吸附推动力的强弱相关, n 越大吸附推动力越大。不同温度下, 3 种有机酸 n 值的大小顺序为柠檬酸> 苹果酸> 酒石酸, 说明 3 种有机酸在 HPD-400 型大孔吸附树脂上的推动力顺序为柠檬酸> 苹果酸> 酒石酸。但是 n 值变化较大, 所以仅用 K<sub>f</sub> 不可能在整个研究的范围内表示 HPD-400 型大孔吸附树脂对 3 种有机酸吸附能力的相对大小, 鉴于此, 根据拟合得到的等温方程可计算出 308 K 下不同平衡浓度的 q<sub>e</sub>。

由表 4 可以看出, 在研究浓度范围之内, 相同条件下的 HPD-400 型树脂对 3 种有机酸的平衡吸附量为: 柠檬酸> 苹果酸> 酒石酸。经研究, 在 298 和

328 K 下 HPD-400 型树脂对 3 种有机酸的平衡吸附量情况与 308 K 下一致。

表 4 308 K 下 HPD-400 型树脂对 3 种有机酸在不同平衡浓度下的 q<sub>e</sub>

Tab 4 q <sub>e</sub> of HPD-400 macroporous resin for three kinds organic acids at different equilibrium concentrations at 308 K			
Ce /(mg/mL)	柠檬酸/(mg/g) Citric acid	苹果酸/(mg/g) Malic acid	酒石酸/(mg/g) Tartaric acid
0.1	0.241 6	0.195 0	0.106 5
0.3	0.341 7	0.300 3	0.192 8
0.5	0.401 5	0.367 1	0.254 2
0.7	0.446 4	0.419 0	0.304 9

根据 Freundlich 方程对 3 种有机酸在 HPD-400 型大孔吸附树脂上的吸附等温线拟合的回归方程, 计算常温 298 K 时 3 种有机酸的浓度为 0.001 mg/mL 时 HPD-400 型大孔吸附树脂对柠檬酸、酒石酸和苹果酸的吸附量分别为 0.089 23, 0.018 08 和 0.059 31 mg/g, 而一般根系分泌物收集液的有机酸浓度范围为 0.1~ 300 mg/L, 所以 HPD-400 型大孔吸附树脂完全可以满足对微量的根系分泌物收集液中有机酸的富集。

3 结论

PD-400 型大孔吸附树脂对 3 种有机酸的吸附能力的顺序为柠檬酸> 苹果酸> 酒石酸, 吸附行为均符合 Freundlich 等温方程, 都表现为优惠吸附。达到吸附平衡时, 对参试几种有机酸(柠檬酸、酒石酸

和苹果酸)的富集系数分别为 11.68, 4.04, 8.17, 理论吸附浓度可达到微克级别, 降低温度和提高浓度均有利于吸附。根系分泌物收集液中, 有机酸的浓度范围约为 0.1~300 mg/L, 因此用 HPD-400 型大孔吸附树脂可作为根系分泌物的富集材料, 通过柱层析对收集液中痕量有机酸进行富集, 然后采用适当洗脱液解吸, 以提高根系分泌物前处理效率, 对此尚待进一步探索、完成。

树脂的类型多, 有吸附和交换树脂, 能充分满足对各种根系分泌物的吸附或交换吸附, 此外, 树脂吸附和交换能力强, 污染少, 可重复利用, 操作简单, 通过不同类型树脂的组合, 既可以去除根系分泌物收集液中的杂质及起干扰作用的阴阳离子, 对根系分泌物进行纯化, 又可以对根系分泌物进行富集。相信通过进一步探索, 树脂在根系分泌物研究领域有更广阔的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] Jones D L. Organic acid in the rhizosphere—acritical review [J]. *Plant and Soil*, 1998, 205: 25–44
- [2] 郇红建, 常江, 张自立, 等. 研究植物根系分泌物的方法[J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39 (1): 56–60
- [3] 洪常青, 聂艳丽. 根系分泌物及其在植物营养中的作用[J]. *生态环境*, 2003, 12 (4): 508–511.
- [4] Neumann G, Römheld V. Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants[J]. *Plant Soil*, 1999, 211: 121–130.
- [5] 贾黎明, 冯菊芬, 文学军, 等. 循环水根系分泌物收集技术的研究及应用[J]. *北京林业大学学报*, 2003, 25 (6): 6–10.
- [6] 李德华, 贺立源, 李建生, 等. 一种根系分泌物中有机酸的前处理和高效液相色谱检测方法[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40 (2): 219–222.
- [7] 李廷轩, 马国瑞, 张锡洲, 等. 籽粒苋不同富钾基因型根系分泌物中有机酸和氨基酸的变化特点[J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11 (5): 647–653.
- [8] 周林, 蔡妙颜, 郭祀远, 等. 大孔吸附树脂应用的研究进展[J]. *昆明理工大学学报(理工版)*, 2003, 28 (6): 99–102.
- [9] 徐世芳, 毛丽珍. 大孔吸附树脂及其在中药化学成分纯化中的应用[J]. *浙江省医学科学院学报*, 2001, 12 (2): 45–47.
- [10] 中国医学科学院药物研究所植化室. 大孔吸附树脂在中草药化学成分提取分离中的一些应用[J]. *中草药*, 1980, 11(3): 128–141.
- [11] 韩金玉, 李海静, 李岩, 等. 大孔吸附树脂对银杏内酯和白果内酯吸附性能的研究[J]. *离子交换与吸附*, 2000, 16(5): 426–431.
- [12] Garcia-Gelgado R A, Cotonuelo J, Rodriguez J. Adsorption of anionic surfactant mixtures by polymeric resins[J]. *Sep Sci Technol*, 1992, 27(7): 1065–1076.
- [13] 黄建明, 郭济贤, 陈万生, 等. 大孔树脂对草乌生物碱的吸附性能及提纯工艺[J]. *复旦学报(医学版)*, 2003, 30(3): 267–269.
- [14] Kunio E, Fusheng L, Yoshihiro A, *et al.* Pore distribution effect of activated carbon in absorbing organic micropollutants from natural water[J]. *Wat Res*, 2001, 35 (1): 167–179.