

不同米蛋白组分与铅的结合规律

冯 伟^{1,2}, 范大明², 董田田^{1,2}, 李国强^{1,2},
倪双双^{1,2}, 王 涛^{1,2}, 张 昊^{1,2}, 王 韧^{*1,2}

(1. 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为了探究不同米蛋白组分与重金属铅(Pb^{2+})的结合规律,从动力学、热力学角度对3种水不溶性米蛋白(球蛋白、谷蛋白、醇溶蛋白)与 Pb^{2+} 的结合特征进行了分析。结果表明:3种蛋白质与 Pb^{2+} 的结合均很迅速,30 min即可达到反应平衡;醇溶蛋白对 Pb^{2+} 的结合能力最强,平衡结合量达20.54 mg/g;米蛋白与 Pb^{2+} 的结合过程符合准二级动力学模型,Langmuir等温吸附模型的拟合效果($R^2=0.980\sim0.995$)要优于Freundlich模型($R^2=0.847\sim0.987$),说明两者结合以化学吸附为主;热力学参数 $\Delta S^\circ > 0$ 、 $\Delta H^\circ > 0$ 、 $\Delta G^\circ < 0$,说明3种米蛋白与 Pb^{2+} 的结合均为自发、熵驱动的吸热反应。X射线光电子能谱(XPS)表明醇溶蛋白与 Pb^{2+} 结合后,N1s和S2p的特征峰强度显著降低($P < 0.05$),说明 Pb^{2+} 主要与醇溶蛋白中的含氮、含硫基团相结合。扫描电镜(SEM)显示醇溶蛋白与 Pb^{2+} 结合后,颗粒发生聚集,呈致密团块状结构,进一步验证了 Pb^{2+} 和醇溶蛋白的结合。

关键词: 米蛋白;铅;结合规律;动力学;等温吸附

中图分类号:TS 210.1 文章编号:1673-1689(2021)12-0052-07 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.12.007

Study on Binding Behaviors of Lead to Different Insoluble Rice Proteins

FENG Wei^{1,2}, FAN Daming², DONG Tiantian^{1,2}, LI Keqiang^{1,2}, NI Shuangshuang^{1,2},
WANG Tao^{1,2}, ZHANG Hao^{1,2}, WANG Ren^{*1,2}

(1. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The binding characteristics of three water-insoluble rice proteins (globulin, glutenin, prolamin) and Pb^{2+} were studied from the perspective of kinetics and thermodynamics to explore the binding behaviors of different rice protein components and heavy metal lead ion (Pb^{2+}). The result showed that Pb^{2+} was rapidly bound to each insoluble rice protein, and the binding equilibrium was reached within 30 min. The prolamin showed the highest binding capacity with a binding adsorption quantity (q) of 20.54 mg/g. The binding of Pb^{2+} to rice proteins was consistent with the quasi-second-order kinetic model, and the Langmuir equation ($R^2=0.980\sim0.995$) had greater fitting effect than that of the Freundlich equation ($R^2=0.847\sim0.987$). The result indicated the interaction between protein subunits and Pb^{2+} was mainly by chemical absorptions. The thermodynamic parameters, i.e., $\Delta S^\circ > 0$, $\Delta H^\circ > 0$ and $\Delta G^\circ < 0$, indicated the spontaneous, entropy-driven and

收稿日期: 2021-04-20

基金项目: 国家“十三五”重点研发计划项目(2017YFE0122600)。

*通信作者: 王 韧(1980—),男,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事粮食精深加工工程与技术研究。E-mail: nedved_wr@jiangnan.edu.cn

endothermic binding reaction. X-ray photoelectron spectroscopy(XPS) showed that the characteristic peak intensity of N1s and S2p was significantly decreased after binding ($P < 0.05$), suggesting that the major binding sites of prolamin for Pb^{2+} were nitrogen- and sulfur-containing groups. Scanning electron microscopy (SEM) displayed that the prolamin structures aggregated and formed a compact cloddy structure after binding to Pb^{2+} , which further verified the binding of Pb^{2+} to rice prolamin.

Keywords: rice protein, lead, binding behaviors, kinetics, adsorption isotherm

大米是我国重要的主粮,近年来大米重金属污染事件频发,对国民健康造成了潜在危害^[1]。铅(Pb^{2+})是大米重金属污染中最典型的元素之一, Pb^{2+} 由工业“三废”排放、矿藏开采等途径进入土壤和水源,随着水稻生长富集,再通过饮食进入人体,人体中血铅超标易引起贫血,损害人体神经、血液、骨骼、消化、生殖等系统^[2]。

Pb^{2+} 主要与大米中的蛋白质组分相结合^[3]。现有研究工作主要侧重于 Pb^{2+} 在稻米中的分布规律、检测技术、脱除方法、健康风险评估等方面^[4-6],例如张园园等采用气浴振荡辅助柠檬酸法脱除稻谷中的 Pb^{2+} ,在优化条件下 Pb^{2+} 脱除率达34.27%^[6],但从理论层面探索 Pb^{2+} 与蛋白质的结合特征、结合机理的报道却鲜有见闻。根据在不同溶剂中溶解度的差异,米蛋白各组分分为清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白,其中清蛋白水溶性好,且主要分布于米糠中^[7],研究其与 Pb^{2+} 的结合代表性不强。

作者以3种水不溶性米蛋白组分(球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白)为研究对象,通过建立动力学模型和等温吸附模型探究各组分与 Pb^{2+} 的结合机制,并通过X射线光电子能谱(XPS)和扫描电镜(SEM)对与 Pb^{2+} 结合后的醇溶蛋白进行表征,进一步探讨蛋白质与 Pb^{2+} 的结合位点及蛋白质微观结构变化,以期大米除铅技术的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大米:稻米品种为南粳9108,泰州市和平米业有限公司提供,采用衢州市库米赛诺粮食机械制造有限公司的高性能节能砂带碾米机(KMSN-MNMD65-B)经4道碾磨加工制备而成;硝酸铅、氢氧化钠、盐酸、硫酸、氯化钠、氯化铁、氯化钙、乙醇、溴化钾、乙二胺四乙酸二钠、柠檬酸三钠、醋酸钠、焦磷酸钠(分析纯)、硝酸(优级纯):国药集团化学试剂有限公司产品。

1.2 仪器与设备

Avanti J-26 XP 高速离心机:美国贝克曼公司产品;透析袋(截留相对分子质量50 000):上海哈灵生物科技公司产品;Beta 2-8 L Dplus 型冻干机:德国Marin Christ公司产品;X-射线光电子能谱分析仪250 XI:日本岛津公司产品;Quanta 200 型扫描电子显微镜:美国FEI公司产品;WX-6000 型微波消解仪:上海屹尧仪器科技发展有限公司产品;AA-220/220Z 原子吸收分光光度计:美国瓦里安公司产品;Millipore-Q 型超纯水系统:美国Millipore公司产品;RV10 型旋转蒸发仪:德国IKA公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 米蛋白组分的制备 3种水不溶性米蛋白的制备参照传统Osborne法并加以改良^[8],如下:将大米粉碎后过80目筛,按固液比1 g:8 mL混合大米粉和去离子水,用1.0 mol/L NaOH调节pH至12.0,搅拌提取4 h后5 000 g离心10 min收集上清液。用1.0 mol/L HCl调节上清液pH至4.5,5 000 g离心10 min收集沉淀,即为米蛋白组分混合物。将此蛋白质混合物依次用去离子水、4 g/dL NaCl、体积分数70%的乙醇、0.1 mol/L NaOH连续提取,各搅拌1 h后5 000 g离心10 min,弃去水提上清液,收集其余步骤上清液。用0.1 mol/L HCl调节盐提、碱提上清液pH分别至4.3和4.8,5 000 g离心10 min收集相应沉淀。醇提上清液采用旋转蒸发仪40℃蒸发浓缩至原体积的10%,加入10倍去离子水混匀,5 000 g离心10 min收集沉淀。将上述3种沉淀分别用去离子水调成pH 6.0的溶液,置于透析袋中透析24 h,每4 h更换去离子水。透析结束进行冷冻干燥,得到球蛋白、谷蛋白和醇溶蛋白,样品放置于-22℃冰箱备用。

1.3.2 米蛋白与 Pb^{2+} 的结合反应 准确称取0.06 g米蛋白,加入10 mL超纯水,水浴振荡分散1 h,按照设定的 Pb^{2+} 质量浓度,加入一定体积硝酸铅溶液,用超纯水补至20 mL,在30℃水浴中以150 r/min

振荡反应一定时间,反应结束后 8 000 *g* 离心 3 min 取上清液,采用火焰原子吸收分光光度计测定吸附前后溶液中 Pb^{2+} 质量浓度。米蛋白的 Pb^{2+} 结合量(q)可参照下方公式计算。

$$q = (c_0 - c_1) \times \frac{v}{m} \quad (1)$$

式中: q 为米蛋白的 Pb^{2+} 结合量,mg/g; c_0 为溶液中 Pb^{2+} 的初始质量浓度,mg/L; c_1 为反应后溶液中 Pb^{2+} 质量浓度,mg/L; m 为米蛋白质量,g; v 为溶液体积,L。

1.3.3 理化指标测定

1) Pb^{2+} 质量浓度的测定 参照 GB 5009.12—2017《食品安全国家标准食品中铅的测定》中第三法火焰原子吸收光谱法。

2) 蛋白质的测定 参照 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》中第一法凯氏定氮法,氮转化系数为 5.95。

1.3.4 动力学模型建立 参照 1.3.2 所述方法,设定 Pb^{2+} 初始质量浓度为 100 mg/L, pH 6.0, 反应温度 30 °C, 在反应时间分别为 2、5、10、30、60、120 min 时测定溶液中 Pb^{2+} 质量浓度,得到 q 随时间的变化曲线,采用准一级动力学模型(公式 2)、准二级动力学模型(公式 3)以及 Elovich 动力学模型(公式 4)对数据进行拟合^[9]。

$$q_t = q_e - q_e \times e^{-k_1 t} \quad (2)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (3)$$

$$q_t = a + b \ln(t) \quad (4)$$

式中: q_e 为平衡吸附量,mg/g; t 为反应时间,min; k_1 为准一级动力学反应速率常数,min⁻¹; k_2 为准二级动力学反应速率常数,g/(mg·min); a, b 为反应常数。

1.3.5 等温吸附模型的建立 参照 1.3.2 所述方法,设定 Pb^{2+} 初始质量浓度分别为 10、20、40、60、80、100、120、140 mg/L, pH 6.0, 反应时间 120 min, 并分别在 15、30、45 °C 下进行反应,绘制等温吸附曲线,采用 Langmuir 模型(公式 5)和 Freundlich 模型(公式 6)进行拟合^[10],其线性化方程如下:

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{q_{\max}} c_e + \frac{1}{K_L q_{\max}} \quad (5)$$

$$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln c_e \quad (6)$$

式中: q_e 为平衡吸附量,mg/g; $q_{\max}$ 为饱和吸附量,mg/g; c_e 为平衡质量浓度,mg/L; K_L 为与吸附强度有关的 L 模型吸附平衡常数; K_F 为与吸附容量有关的 F 模型

吸附平衡常数; n 为与吸附强度有关的 F 模型常数。

参照文献 [11–12], 热力学参数吉布斯自由能 ΔG° (kJ/mol)、焓变 ΔH° (kJ/mol) 和熵变 ΔS° (J/mol) 的计算采用以下公式:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_L \quad (7)$$

$$\ln K_L = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (8)$$

式中: K_L 为 L 模型吸附平衡常数; R 为理想气体常数,8.314 J/(mol·K); T 为开尔文温度,K。

1.3.6 X 射线光电子能谱分析(XPS) 醇溶蛋白在 Pb^{2+} 初始质量浓度 100 mg/L, 温度 30 °C, pH 6.0 条件下反应 2 h, 反应结束后离心取沉淀,水洗 2 次,然后进行冷冻干燥。将干燥的醇溶蛋白和醇溶蛋白- Pb^{2+} 结合物用于 XPS 分析。使用 Al-K α X 射线源,能谱扫描范围为 1~1 300 eV,用结合能为 285.0 eV 的 C1s 校准光谱进行校正。

1.3.7 表观形态分析 将上述干燥后的醇溶蛋白和醇溶蛋白- Pb^{2+} 结合物固定于导电胶表面,在真空中喷涂铂金(厚度约 30 nm),使用 Quanta-200 扫描电子显微镜(SEM)观察拍摄。

1.4 数据处理

利用 SPSS 17.0 和 Excel 软件进行数据处理及统计分析。利用 Origin 9.0 软件进行图形绘制。数据以平均值±标准差的方式表示。每次实验重复 3 次。

2 结果与讨论

2.1 不同米蛋白样品的蛋白质质量分数

采用改良 Osborne 法提取得到的 3 种米蛋白质质量分数见表 1,其中球蛋白与谷蛋白达到 94% 以上,醇溶蛋白达到 88%,质量分数较高。传统方法中蛋白质质量分数较低,主要杂质是淀粉及多糖,而作者采取的方法在第一步总蛋白的提取中已去除了大量的杂质,且经过水洗、透析等步骤,纯度得到很大提高。

表 1 3 种米蛋白的质量分数分析

Table 1 Mass ratio analysis of different rice protein

蛋白质种类	蛋白质质量分数/%
球蛋白	96.82±2.44
醇溶蛋白	88.50±2.08
谷蛋白	94.03±0.02

2.2 不同米蛋白与 Pb^{2+} 结合的动力学

如图 1 所示,球蛋白、醇溶蛋白、谷蛋白 3 种蛋

白质与 Pb^{2+} 的结合均在较短时间内达到了平衡,在前 10 min 内反应迅速,之后反应速度变慢并逐渐达到饱和,30 min 后 q 基本不再增加。这可能是因为蛋白质表面可结合 Pb^{2+} 的位点数有限,反应开始时大量 Pb^{2+} 急速涌向结合位点,导致 q 快速升高;随着 Pb^{2+} 逐渐结合到蛋白质上,蛋白质结构的致密性增加,结合位点被占据殆尽, q 增速越来越缓慢^[13],并逐渐达到平衡状态。醇溶蛋白、球蛋白、谷蛋白的平衡结合量依次为 20.54、12.00、3.32 mg/g,可见醇溶蛋白对 Pb^{2+} 的吸附能力最强。

如表 2 所示,采用准一级动力学模型、准二级动力学模型以及 Elovich 动力学模型来描述 3 种米蛋白与 Pb^{2+} 的结合过程。准一级动力学模型假设吸附速率与有效吸附位点数成正比,即为物理吸附;准二级动力学模型假设吸附速率与有效吸附位点数的平方成正比,吸附质与吸附剂表面的官能团之间发生了电子共享或者交换,即为化学吸附^[14-15];Elovich 动力学模型综合了准一级和准二级动力学模型的边界条件范围,即同时存在物理吸附与化学

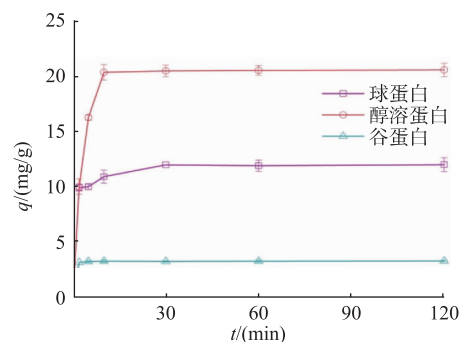


图1 不同米蛋白与 Pb^{2+} 的结合量(q)随时间的变化曲线
Fig. 1 Adsorption quantity (q) of different rice protein to Pb^{2+} at the different time

吸附^[16]。表 2 中 Elovich 动力学模型和准一级动力学模型拟合得到的线性相关系数 R^2 较低,准二级动力学模型的拟合参数 R^2 均达到 0.99 以上,且拟合得到的该反应条件下的理论平衡吸附量(q_e)与前文中的实测值十分接近,说明准二级动力学模型可以更好地拟合 3 种米蛋白与 Pb^{2+} 的结合过程,此结合反应以化学吸附为主。

表 2 不同米蛋白与 Pb^{2+} 结合的动力学参数

Table 2 Kinetic adsorption parameters of Pb^{2+} to different proteins

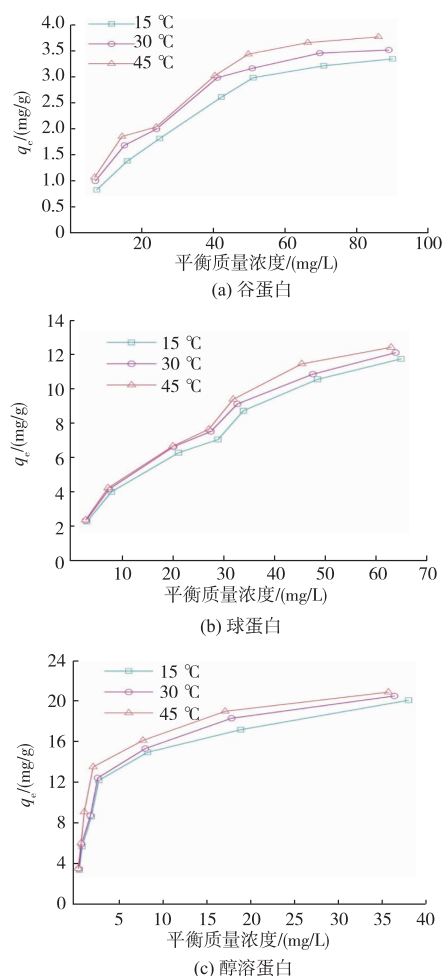
样品	准一级动力学模型			准二级动力学模型			Elovich 动力学模型		
	$k_1/(\text{min}^{-1})$	$q_1/(\text{mg/g})$	R^2	$k_2/(\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{min}))$	$q_2/(\text{mg/g})$	R^2	a	b	R^2
球蛋白	0.16	12.3	0.933	0.24	12.5	0.998	0.59	9.45	0.891
醇溶蛋白	0.10	14.4	0.934	0.13	20.0	0.999	2.27	11.61	0.689
谷蛋白	0.13	1.2	0.694	0.61	3.3	0.999	0.24	3.21	0.661

2.3 不同米蛋白与 Pb^{2+} 结合的等温吸附模型及热力学分析

图 2 显示了在不同初始质量浓度、不同温度下, Pb^{2+} 平衡质量浓度与各蛋白质组分 q_e 的关系。当 Pb^{2+} 质量浓度较低时, q_e 增长较快,尤其是醇溶蛋白;而当 Pb^{2+} 质量浓度较高时, q_e 的增长逐渐变缓并趋稳。这可能是因为蛋白质表面可与 Pb^{2+} 结合的位点数量一定,低初始质量浓度时 Pb^{2+} 可结合的位点充足,结合迅速^[17];随着 Pb^{2+} 质量浓度的增加,蛋白质表面未被占据的结合位点逐渐减少,同时高 Pb^{2+} 质量浓度导致蛋白质发生聚集,比表面积减小^[18],结合位点总量进一步减少,促进反应趋向平衡。除 Pb^{2+} 初始质量浓度的影响之外,温度对蛋白质与 Pb^{2+} 的结合也有重要影响,3 种米蛋白均呈现出温度升高利于吸附的现象,这与 Liu 关于大豆微球蛋白对

Pb^{2+} 吸附的研究结论一致^[19]。在一定范围内温度上升,一方面可促进蛋白质溶胀,使肽链伸展,进而比表面积增大,基团暴露,有利于吸附的进行;另一方面也可能是由于各蛋白质组分与 Pb^{2+} 的结合过程为吸热反应,适当升温提高了反应的平衡常数。

采用 Langmuir 模型和 Freundlich 模型对 3 种米蛋白在不同温度下的吸附数据进行拟合,见表 3。相比于 Freundlich 模型,Langmuir 模型的 R^2 较高,可以更好地拟合蛋白质与 Pb^{2+} 的结合过程。Langmuir 模型主要适用于发生在吸附基质表面的单分子层吸附过程,该模型假定吸附基质表面均匀分布着活性位点且不发生相互作用^[20]。这说明 3 种米蛋白与 Pb^{2+} 的结合均是以均匀的单分子层吸附为主,这也解释了图 1 中 q 随时间变化快速达到平衡的原因。此外,表 3 中 3 种米蛋白的最大吸附量 q_{max}

图2 不同米蛋白与 Pb^{2+} 结合的等温吸附线Fig. 2 Isothermal adsorption line of Pb^{2+} binding to different proteins

均随着温度的升高而增大。吸附反应过程一般同时存在物理吸附和化学吸附,物理吸附是以范德华力为作用力的单分子层或多分子层吸附,此类吸附不

稳定、易解吸、不受温度影响;化学吸附则是以化学键为作用力的单分子层吸附,温度升高可加快吸附速率,一定范围内可提高吸附量^[21]。由此推断3种米蛋白组分与 Pb^{2+} 的结合主要为化学吸附,这与前文中动力学分析的结论一致。

由表3中的热力学数据可知,3种米蛋白的 ΔG° 均为负值,表明3种米蛋白与 Pb^{2+} 的结合是自发性反应; ΔS° 、 ΔH° 均为正值,说明此结合过程是熵驱动的吸热反应,进一步证实了前文中关于随温度升高 q_{max} 增大原因的推测。从数值来看,3种米蛋白与 Pb^{2+} 结合的 ΔH° 较小,且为正值, ΔS° 为正值,这说明可能是疏水作用在吸附过程中起到了重要作用^[22]。醇溶蛋白的 ΔS° 、 ΔH° 数值均高于其他两种蛋白质,说明醇溶蛋白对 Pb^{2+} 有较强的吸附性能^[23]。

2.4 醇溶蛋白与 Pb^{2+} 结合的基团变化

采用X射线光电子能谱技术(XPS)对醇溶蛋白与 Pb^{2+} 结合后的基团变化进行表征。如图3(a)所示,在140 eV附近观察到 $\text{Pb}4f$ 结合能的特征峰^[24],说明 Pb^{2+} 与醇溶蛋白之间发生了化学结合。S原子的峰发生了明显的重叠现象,故采用Peakfit软件通过高斯拟合进行分峰处理,获取单峰信息。图3(c)显示,醇溶蛋白 $\text{O}1s$ 在532.3 eV附近有显著的峰值,且峰位移较小、峰强度减弱,这个位置对应于醚基团(主要是羧基)^[11,25]。醇溶蛋白 $\text{N}1s$ 结合 Pb^{2+} 后在399.9 eV处出峰,结合能未发生转移但强度显著降低($P < 0.05$),说明含N基团与 Pb^{2+} 发生了结合^[26]。醇溶蛋白 $\text{S}2p$ 分别在159.8、163.8 eV和167.9 eV附近出峰,代表硫醚基($-\text{S}-$)、巯基($-\text{SH}$)和磺酸基($-\text{SO}_3$)^[27],这些基团结合能的移动或强度变化均说

表3 不同米蛋白与 Pb^{2+} 结合的等温吸附模型及热力学参数Table 3 Isothermal adsorption models fitting parameters and adsorption thermodynamic parameters of Pb^{2+} to different proteins

蛋白质	温度 K	等温吸附模型参数						热力学参数		
		Langmuir 模型			Freundlich 模型			$\Delta G^\circ / (\text{kJ/mol})$	$\Delta H^\circ / (\text{kJ/mol})$	$\Delta S^\circ / (\text{J}/(\text{mol} \cdot \text{K}))$
		$q_{\text{max}} / (\text{mg/g})$	$K_L / (\text{L/mg})$	R^2	$K_F / (\text{mg/g})$	$n / (\text{L/mg})$	R^2			
球蛋白	288	11.49	0.075	0.992	1.23	1.84	0.983	-23.12	1.33	84.89
	303	12.05	0.078	0.995	1.34	1.86	0.987	-24.42		
	318	12.35	0.079	0.992	1.35	1.84	0.985	-25.67		
醇溶蛋白	288	22.22	0.330	0.984	5.88	2.59	0.885	-19.34	7.80	132.04
	303	22.56	0.380	0.986	6.24	2.60	0.896	-23.04		
	318	25.64	0.390	0.980	7.04	2.76	0.847	-27.49		
谷蛋白	288	4.35	0.031	0.994	0.28	1.75	0.977	-18.90	4.50	100.20
	303	4.55	0.040	0.992	0.39	1.92	0.979	-21.69		
	318	4.76	0.042	0.982	0.43	1.96	0.969	-25.08		

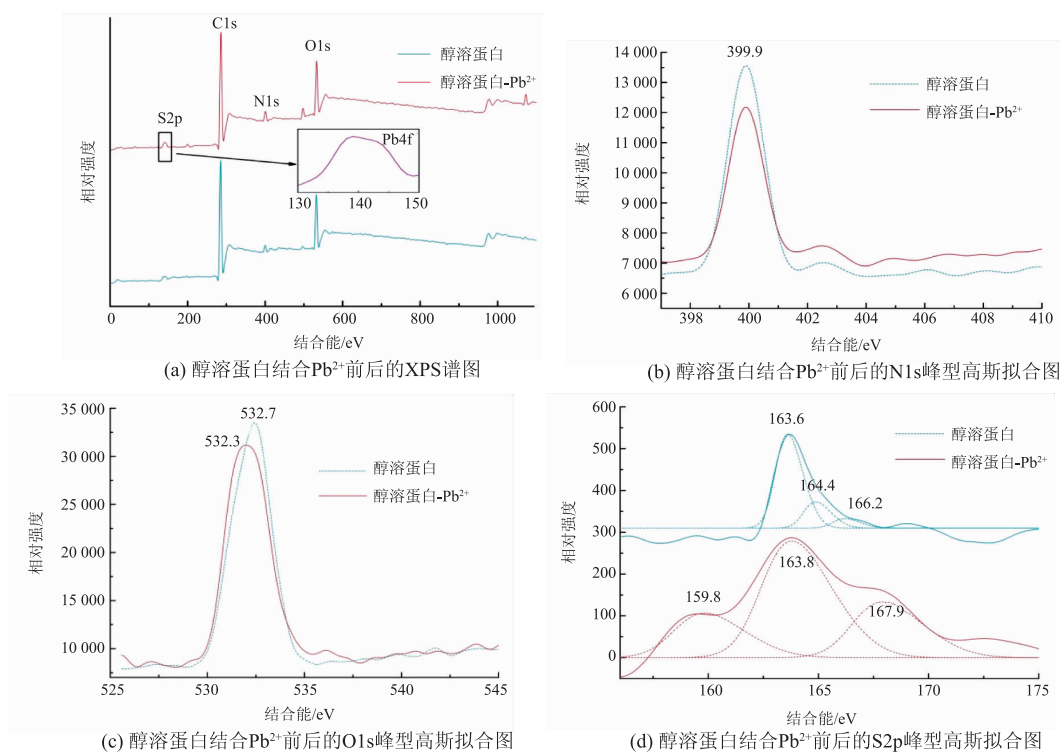


图3 醇溶蛋白结合 Pb^{2+} 前后的 XPS 及峰型高斯拟合图

Fig. 3 XPS spectra of prolamin before and after binding with Pb^{2+}

明了含硫基团与 Pb^{2+} 发生结合作用。Takashi 等在其研究中发现,大米醇溶蛋白中含硫的氨基酸含量较高,这正是醇溶蛋白对 Pb^{2+} 吸附能力强的原因^[28]。

2.5 醇溶蛋白与 Pb^{2+} 结合的表现形态变化

醇溶蛋白结合 Pb^{2+} 前后的扫描电子显微镜形貌观察见图 4, 未结合 Pb^{2+} 的醇溶蛋白原本呈现出片层连接结构; 在结合 Pb^{2+} 之后, 蛋白质颗粒发生聚集, 并形成了更加致密的团块状结构。

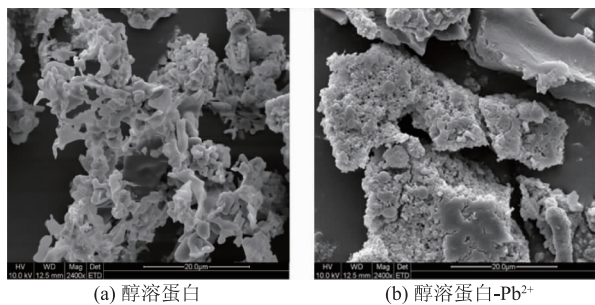


图4 醇溶蛋白结合 Pb^{2+} 前后的 SEM 图

Fig. 4 SEM image of prolamin before and after binding Pb^{2+}

参考文献:

- [1] 雷鸣,曾敏,王利红,等. 湖南市场和污染区稻米中 As、Pb、Cd 污染及其健康风险评价[J]. 环境科学学报,2010,30(11): 2314-2320.

这证实了前文中关于 Pb^{2+} 导致蛋白质发生聚集,引起比表面积减小、结合位点总量减少的猜测。此聚集现象主要是由于 Pb^{2+} 所带正电荷与蛋白质表面带负电荷的基团形成化学键引起^[18],与等温吸附模型的解释一致。

3 结语

通过对 3 种水不溶性米蛋白组分与铅的结合能力进行分析,得到如下结论:3 种蛋白质对铅的结合均是以在蛋白质表面的单分子层形式发生化学吸附为主,是熵驱动的自发吸热反应过程,结合过程符合准二级动力学模型、Langmuir 等温吸附模型。3 种蛋白质中醇溶蛋白对铅的吸附能力最强,XPS 谱图表明醇溶蛋白与铅发生结合的基团主要是含氮、含硫基团,蛋白质结构由未结合时的片层状转变为结合后的聚集团块状,结构更加致密,引起结合位点总量减少,可加快反应平衡的速度。

- [2] 童建华,梁艳萍,刘素纯,等. 水稻铅污染研究进展[J]. 亚热带植物科学,2009,38(2):74-78.
- [3] 孙昕炀. 中国大米重金属水平分析及其健康风险评估[D]. 南京:南京农业大学,2012.
- [4] 杨居荣,何孟常,查燕,等. 水稻籽实中 Pb 的分布及其结合形态[J]. 农业环境保护,2001,20(3):129-132.
- [5] 吴云兵,周章轩. 福建省 4 设区市米制品中铅镉汞砷含量监测分析[J]. 海峡预防医学杂志,2019,25(3):59-61.
- [6] 张园园,柯璐璐,任俏菁,等. 响应面法优化柠檬酸脱除稻谷中的铅工艺[J]. 粮食与油脂,2020,33(8):65-68.
- [7] 冯伟,王涛,董田田,等. 不同米蛋白组分与镉的结合规律[J]. 食品与机械,2018,34(11):4-10.
- [8] 孙媛. 改良 Osborne 法分级分离四种小麦蛋白的研究[D]. 广州:华南理工大学,2015.
- [9] SHAIK B,KALPANA M,YASMIN K. Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies on biosorption of hexavalent chromium by dead fungal biomass of marine *Aspergillus niger*[J]. **Chemical Engineering Journal**,2009,145(3):489-495.
- [10] ZOU S P,LIU M,WANG Q L,et al. Preparative separation of echinocandin B from *Aspergillus nidulans* broth using macroporous resin adsorption chromatography[J]. **Journal of Chromatography B**,2015,978-979:111-117.
- [11] KONG W J,LI Q,LIU J,et al. Adsorption behavior and mechanism of heavy metal ions by chicken feather protein-based semi-interpenetrating polymer networks super absorbent resin[J]. **RSC Advances**,2016,6(86):83234-83243.
- [12] 王未,贾清东,毛日文,等. 循环超声提取玛咖生物碱动力学及热力学研究[J]. 食品与生物技术学报,2017,5(36):512-518.
- [13] 尹仁文,陈正行,李娟,等. 米渣蛋白对镉的吸附效果及其对土壤中镉的钝化作用研究[J]. 农业工程学报,2019,35(2):221-228.
- [14] KHAMBHATY Y,MODY K,BASHA S. Efficient removal of Brilliant Blue G (BBG) from aqueous solutions by marine *Aspergillus wentii*: kinetics, equilibrium and process design[J]. **Ecological Engineering**,2012,41:74-83.
- [15] ALVIN W M I P,JOHN P B,GORDON M. A comparative study on the kinetics and mechanisms of removal of Reactive Black 5 by adsorption onto activated carbons and bone char[J]. **Chemical Engineering Journal**,2010,157(2-3):434-442.
- [16] CHENG L P,SUN L,XUE W L,et al. Adsorption equilibrium and kinetics of Pb (II) from aqueous solution by modified walnut shell[J]. **Environmental Progress and Sustainable Energy**,2016,35(6):1724-1731.
- [17] ALOK M,LISHA K,JYOTI M. Freundlich and Langmuir adsorption isotherms and kinetics for the removal of tartrazine from aqueous solutions using hen feathers[J]. **Journal of Hazardous Materials**,2007,146(1/2):243-248.
- [18] MARKUS J T,SANDEEP K S,SEBASTIAN I,et al. Heavy metals and metalloids as a cause for protein misfolding and aggregation[J]. **Biomolecules**,2014,4(1):252-267.
- [19] LIU D G,LI Z H,LI W,et al. Adsorption behavior of heavy metal ions from aqueous solution by soy protein hollow microsphere [J]. **Industrial and Engineering Chemistry Research**,2013,52(32):11036-11044.
- [20] MCKAY G,OTTERBURN M S,AGA J A. Fuller's earth and fired clay as adsorbents for dyestuffs equilibrium and rate studies[J]. **Water,Air,and Soil Pollution**,1985,24(3):307-322.
- [21] 吴镔,王雄,石晓琴,等. 材料物理化学[M]. 北京:国防工业出版社,2012:297-300.
- [22] PHILIP D R,SUBRAMANIAN S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability[J]. **Biochemistry**,1981,20(11):3096-3102.
- [23] 刘晶晶. Pb(II)、Cu(II)、Cd(II)在黄土上竞争吸附及解吸特性研究[D]. 杭州:浙江大学,2014.
- [24] MARYAM I,HANAFI I,ZULKIFLI A,et al. Synthesis of linear low-density polyethylene-g-poly (acrylic acid)-co-starch/organo-montmorillonite hydrogel composite as an adsorbent for removal of Pb(II) from aqueous solutions[J]. **Journal of Environmental Sciences**,2015,27(1):9-20.
- [25] BADRUDDOZA A Z M,TAY A S H,TAN P Y,et al. Carboxymethyl- β -cyclodextrin conjugated magnetic nanoparticles as nano-adsorbents for removal of copper ions: synthesis and adsorption studies[J]. **Journal of Hazardous Materials**,2011,185(2/3):1177-1186.
- [26] WANG D D,WANG J N. Electrospinning polyvinyl alcohol/silica-based nanofiber as highly efficient adsorbent for simultaneous and sequential removal of Bisphenol A and Cu(II) from water[J]. **Chemical Engineering Journal**,2017,314:714-726.
- [27] YONG S K,BOLAN N,LOMBI E,et al. Synthesis and characterization of thiolated chitosan beads for removal of Cu(II) and Cd (II) from wastewater[J]. **Water,Air,and Soil Pollution**,2013,224(12):1-12.
- [28] TAKASHI H,KUNITOMO K,TAKEHIRO M,et al. Amino acid composition of rice prolamins polypeptides[J]. **Agricultural and Biological Chemistry**,1989,53(2):513-518.