

# 无机磷源及酶活性与厌氧污泥产磷化氢的关系

曹建平<sup>1,2</sup>, 张朝升<sup>1</sup>, 赵丽敏<sup>1</sup>, 荣宏伟<sup>1</sup>, 韦伟<sup>1</sup>, 刘涛<sup>1</sup>

(1. 广州大学 省部共建教育部珠江三角洲水质安全与保护实验室, 广东 广州 510006;

2. 东华理工大学 水资源与环境工程学院, 江西 南昌 330013)

**摘要:** 通过批次试验,研究了不同价态的3种无机磷源(磷酸二氢钾、亚磷酸钠和次磷酸钾)及相关酶活性与厌氧活性污泥产磷化氢的关系。结果表明,在3种不同无机磷源条件下,总磷浓度与结合态磷化氢(MBP)浓度均呈较好的负相关性,相关系数及MBP浓度均以次磷酸钾为最高,分别为0.97和6 950 ng/kg干污泥,说明次磷酸钾更容易转化成磷化氢。对磷化氢产量的分析显示,顶空自由态磷化氢( $\text{PH}_3$ )约为污泥中MBP的万分之一,说明厌氧活性污泥对磷化氢有很强的吸附作用。MBP与污泥碱性磷酸酶活性具有较好的线性相关性,而与脱氢酶活性无相关性。

**关键词:** 无机磷源; 磷化氢; 厌氧活性污泥; 碱性磷酸酶活性

**中图分类号:** X703 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2017)01-0110-04

## Relationships of Inorganic Phosphorus Sources and Enzymes Activities to Phosphine Production from Anaerobic Activated Sludge

CAO Jian-ping<sup>1,2</sup>, ZHANG Chao-sheng<sup>1</sup>, ZHAO Li-min<sup>1</sup>, RONG Hong-wei<sup>1</sup>,  
WEI Wei<sup>1</sup>, LIU Tao<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory for Water Quality Security and Protection in Pearl River Delta <Ministry of Education and Guangdong Province>, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China; 2.

School of Water Resources and Environmental Engineering, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China)

**Abstract:** The relationships of three kinds of inorganic phosphorus sources including potassium dihydrogen phosphate, sodium phosphite and potassium hypophosphite and enzymes activities to phosphine production from anaerobic activated sludge were studied through batch experiments. The results indicated that there was a strong negative relationship between total phosphorus (TP) concentration and matrix-bound phosphine (MBP) concentration under the conditions of three kinds of inorganic phosphorus sources. When potassium hypophosphite was used as the phosphorus source, the highest correlation coefficient and the maximum MBP concentration appeared, and these values were 0.97 and 6 950 ng/kg, respectively, which showed that potassium hypophosphite could be translated into phosphine more easily. By analyzing the production of phosphine, it was found that the phosphine in the headspace ( $\text{PH}_3$ ) accounted for about 1/10 000 of MBP, which showed that anaerobic activated sludge had a strong adsorption of phosphine. There was a strong linear relationship between the MBP concentration and alkaline

phosphatase activity, and the MBP concentration had no relation to dehydrogenase activity.

**Key words:** inorganic phosphorus source; phosphine; anaerobic activated sludge; alkaline phosphatase activity

磷化氢是自然界磷循环的重要物质形态和气相载体,有自由态磷化氢( $\text{PH}_3$ )和结合态磷化氢(MBP)两种存在形式。对于磷化氢的产生机制,目前还处于在研阶段,尚未得出确切的结论,一般认为磷化氢是由有机或无机含磷物质在微生物的作用下转化而来<sup>[1,2]</sup>。关于自然环境中磷化氢的前体物及可能相关微生物的研究,耿金菊<sup>[3]</sup>研究发现沉积物中的磷化氢含量与无机磷含量及无机磷细菌呈显著正相关,与有机磷细菌则没有明显的相关性。但具体是何种无机磷参与反应,不同无机磷源与磷化氢产生的关系以及它们之间可能的转换途径,还有待进一步研究。为此,笔者以厌氧活性污泥作为泥源,研究了不同价态的3种无机磷源(磷酸二氢钾、亚磷酸钠和次磷酸钾)与厌氧活性污泥产磷化氢的关系,以及碱性磷酸酶、脱氢酶与产磷化氢的相关性,分析不同含磷化合物转化为磷化氢的可能性和难易程度,以期为磷化氢产生机理的研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验污泥:取自广州大学城北亭村生活污水排水沟。

培养基:以葡萄糖为碳源(1 000 mg/L),以氯化铵为氮源(500 mg/L),分别以磷酸二氢钾、亚磷酸钠和次磷酸钾为磷源(TP为50 mg/L),参照文献[4]的方法添加微量元素,调节pH值为7.0左右,同时添加碳酸氢钠作为缓冲剂。

仪器:Agilent7890A气相色谱仪,AutoTDS-IV型二次热解析仪。

### 1.2 试验装置及方法

污泥驯化:采用如图1所示的ASBR反应器(有效容积为20 L)驯化污泥,每周投加以磷酸二氢钾为磷源的培养基8 L,培养周期为4 d,温度控制在35℃左右,pH值控制在6.8~7.5之间,连续培养驯化3个月,取驯化后的污泥进行试验。

批次试验:取100 mL混匀后的污泥置于500 mL医用盐水瓶内,加入300 mL培养基(使污泥浓度在25 g/L左右),加塞,通入高纯氮气5 min除氧,然后接入集气袋,置于35℃恒温水浴培养。每

个样品设3个平行,同时进行不加磷源底物的空白对照试验,每12 h摇匀培养物,每24 h取样分析。

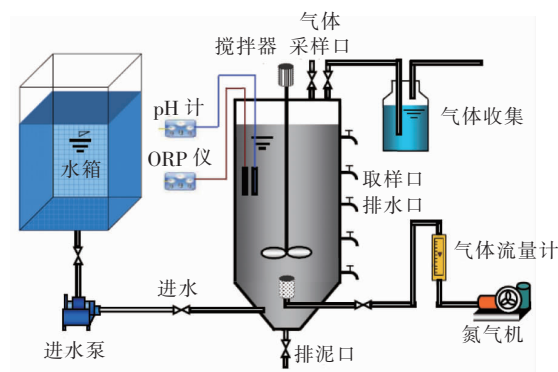


图1 污泥驯化装置

Fig. 1 Schematics of sludge domestication device

### 1.3 分析项目及方法

$\text{PH}_3$ :用黑色Tedlar采气袋收集后,先通过二次热解析仪富集,再进入气相色谱仪测定<sup>[5]</sup>。检测器为氮磷检测器(NPD),Blos 铂珠;色谱柱采用HP-5毛细管柱(5%苯基+95%聚二甲基硅氧甲烷,尺寸为30 m×0.53 mm×1.5 μm),柱温为40℃,检测器温度为300℃。载气(氮气)流量为5.5 mL/min,空气流量为120 mL/min,分流比为2:1,氢气流量为3 mL/min,尾吹氮气的流量为4.5 mL/min,检测器电压约为1.08 V,控制信号输出在10 pA左右。

MBP:取1 mL污泥混合液用0.5 mol/L的硫酸消解<sup>[6]</sup>,置换出50 mL混合气体,按照 $\text{PH}_3$ 的检测方法进行测定。

TP:取上清液经0.45 μm微孔滤膜过滤,滤液经硫酸钾消解后用钼酸铵分光光度法测定。

脱氢酶:取2 mL污泥混合液,参照文献[7]所述方法进行测定。

碱性磷酸酶:取3 mL污泥混合液,参照文献[7]所述方法进行测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 TP浓度变化与磷化氢产量

试验中,在磷酸二氢钾、亚磷酸钠和次磷酸钾3种磷源条件下,TP浓度均随培养时间的延长而下降,培养120 h后,TP去除量分别为5.4、6.4、8.6 mg/L。从总磷去除角度看,次磷酸钾是3种磷源中

最容易去除的。

自由态磷化氢( $\text{PH}_3$ )浓度的变化见图2。可知, $\text{PH}_3$ 浓度在0~48 h内逐渐上升,48 h后呈下降趋势,96 h后趋于平稳。在整个过程中, $\text{PH}_3$ 浓度始终有如下关系:次磷酸钾>亚磷酸钠>磷酸二氢钾>空白,3种磷源对应的最高 $\text{PH}_3$ 浓度依次为111、90、66  $\text{ng}/\text{m}^3$ ,表明三种磷源被还原成 $\text{PH}_3$ 的容易程度依次为:次磷酸钾>亚磷酸钠>磷酸二氢钾,这与孙亮等<sup>[8]</sup>采用连续搅拌反应器进行试验所得出的“次磷酸盐的还原性高,容易被微生物利用产生磷化氢”的研究结论一致。

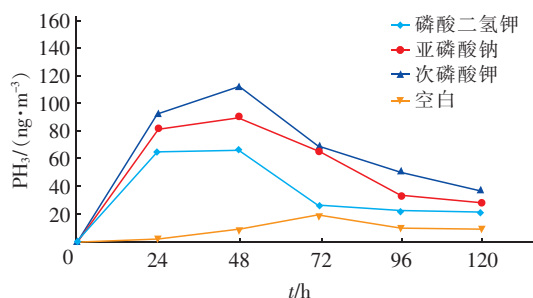


图2  $\text{PH}_3$  浓度随培养时间的变化

Fig. 2 Change of  $\text{PH}_3$  concentration with time

结合态磷化氢浓度的变化如图3所示。可知,随着培养时间的延长,MBP浓度逐渐上升,其中以次磷酸钾为磷源时最高,培养120 h后达到6 950  $\text{ng}/\text{kg}$  干污泥,以磷酸二氢钾为磷源时最低,培养120 h后为3 006  $\text{ng}/\text{kg}$  干污泥,从产物的角度再次说明次磷酸钾更容易被还原生成磷化氢。与空白样的对比表明,磷源的加入对于磷化氢的生成具有明显的促进作用,加入的磷源为磷化氢的可能前体物。

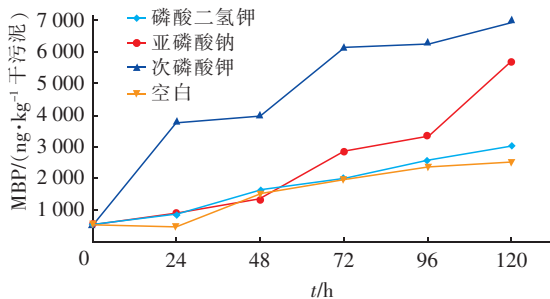


图3 MBP 浓度随培养时间的变化

Fig. 3 Change of MBP concentration with time

## 2.2 $\text{PH}_3$ 、TP 与 MBP 浓度的相关性

本试验结果表明,随着培养时间的增加, $\text{PH}_3$ 浓度呈先上升后下降的变化趋势,而 MBP 浓度一直呈

上升趋势, $\text{PH}_3$ 浓度和 MBP 浓度不具备相关性,这与耿金菊等<sup>[9]</sup>研究得出的“沉积物吸附态磷化氢含量与顶空磷化氢气体具有时间和含量上的一致性”的结论不同。分析其原因,本试验在培养过程中对培养瓶摇动混匀间隔时间较长,不利于磷化氢的析出,从而影响了顶空自由态磷化氢的生成浓度。通过计算培养过程中磷化氢的产生量发现,以磷酸二氢钾为磷源时,在1个培养周期中, $\text{PH}_3$ 和 MBP 的生成量分别为4.8  $\mu\text{g}$ 和24.5  $\text{ng}$ ,MBP的生成量是 $\text{PH}_3$ 的5 112倍;而对于亚磷酸钠、次磷酸钾及空白样品试验,该值分别为7 171、7 504和17 429倍。这说明在该培养体系中,厌氧活性污泥对磷化氢有很强的吸附作用, $\text{PH}_3$ 只占 MBP 的极少部分(约万分之一),故在本培养体系进行磷化氢产量分析时,应以 MBP 为主。

经分析发现,TP浓度和 MBP 浓度具有较好的负相关性,其中以次磷酸钾为磷源时相关性最大, $R^2=0.97(P<0.01)$ ,而空白样的相关性最小, $R^2=0.74(P<0.01)$ ,如图4所示。这说明 MBP 的生成与 TP 浓度的降低具有较强的关联性。然而,以次磷酸钾为磷源时,TP减少量为3.44  $\text{mg}$ ,而 MBP 的生成量约为64  $\text{ng}$ ,相差了5个数量级,减少的 TP 去向及其与 MBP 的转换关系有待进一步研究。

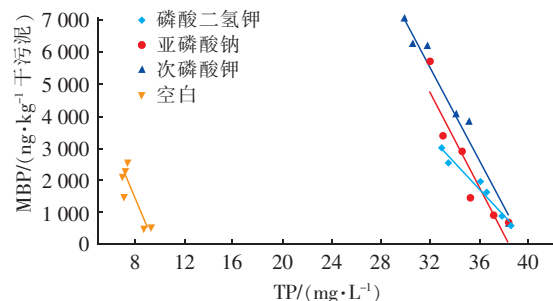


图4 TP 浓度与 MBP 浓度的线性相关性

Fig. 4 Linear correlation between TP concentration and MBP concentration

## 2.3 MBP 与相关酶活性的关系

假如磷化氢的前体物为磷酸盐,磷酸盐还原生成磷化氢需要电子,在本试验体系中,该电子的主要来源为脱氢酶催化葡萄糖等有机物氧化(脱氢)而释放的电子。相关研究表明,自然环境中 MBP 的浓度与脱氢酶活性及碱性磷酸酶活性呈现很好的正相关性<sup>[7,10,11]</sup>。但本试验发现,脱氢酶活性与 MBP 浓度并无相关性,是否加入磷源并不影响脱氢酶活性。



脱氢酶活性与甲烷产量呈现出了相似的变化趋势,即在前24 h内上升、然后逐渐降低。碱性磷酸酶活性与MBP具有很好的线性相关性,如图5所示,以磷酸二氢钾为磷源时相关系数最大( $R^2 = 0.87, P < 0.01$ ),以亚磷酸钠为磷源时相关系数最小( $R^2 = 0.65, P < 0.01$ )。一般认为碱性磷酸酶催化有机磷的矿化<sup>[12]</sup>,其作用是催化有机磷向磷酸盐转化<sup>[13]</sup>。本试验加入的为无机磷酸盐,结果表明碱性磷酸酶在无机磷酸盐被还原为磷化氢的过程中起到了一定的催化作用。

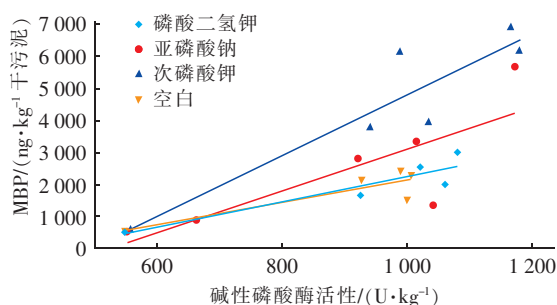


图5 碱性磷酸酶活性与MBP浓度的线性相关性

Fig. 5 Linear correlation between alkaline phosphatase activity and MBP concentration

### 3 结论

① 向厌氧活性污泥中加入无机磷源,对于磷化氢的生成具有明显的促进作用,加入的磷源可能为磷化氢的前体物。3种磷源被还原成磷化氢的容易程度依次为:次磷酸钾>亚磷酸钠>磷酸二氢钾。

② 顶空自由态磷化氢( $\text{PH}_3$ )约为污泥中结合态磷化氢(MBP)的万分之一,厌氧活性污泥对磷化氢有很强的吸附作用。

③ 磷化氢产生量与污泥碱性磷酸酶活性具有较好的线性相关性,而与脱氢酶活性无相关性。

### 参考文献:

- [1] Roels J, Verstraete W. Biological formation of volatile phosphorus compounds[J]. *Bioresour Technol*, 2001, 79(3): 243–250.
- [2] Schink B, Friedrich M. Bacterial metabolism: Phosphite oxidation by sulphate reduction[J]. *Nature*, 2000, 406(6791): 37.
- [3] 耿金菊. 湖泊沉积物中磷化氢的释放过程及其产生机制研究[D]. 南京:南京大学, 2005.
- [4] 张绍青, 张立秋, 张朝升, 等. ASBR颗粒污泥培养及去除有机物的研究[J]. *广东化工*, 2013, 40(24): 96

–97.

- [5] 张朝升, 张可方, 孙亮, 等. 碳源对厌氧活性污泥产生磷化氢的影响[J]. *中国给水排水*, 2013, 29(15): 103–106.
- [6] Niu X J, Wei A S, Li Y D, et al. Phosphine in paddy fields and the effects of environmental factors[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(9): 1942–1947.
- [7] Liu Z P, Wang B J, Jia S F, et al. Relationships between phosphine content of samples and their microbial populations and enzyme activities[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, 46(4): 608–612.
- [8] 孙亮, 张朝升, 张可方, 等. 不同磷源对厌氧活性污泥产生磷化氢的影响[J]. *中国给水排水*, 2012, 28(21): 89–91.
- [9] 耿金菊, 乔松, 张蕤, 等. 自然界磷化氢前体物类型的研究[J]. *南京大学学报:自然科学版*, 2007, 43(4): 338–344.
- [10] Zhu R B, Ma D W, Ding W, et al. Occurrence of matrix-bound phosphine in polar ornithogenic tundra ecosystems: Effects of alkaline phosphatase activity and environmental variables[J]. *Sci Total Environ*, 2011, 409(19): 3789–3800.
- [11] 游丽丽, 宗海波, 张淑芳, 等. 金普湾海域表层沉积物中基质结合态磷化氢的分布特征[J]. *环境科学*, 2013, 34(10): 3804–3809.
- [12] 夏卓英, 陈芳, 宋春雷, 等. 长江中下游部分湖泊沉积物碱性磷酸酶分布及其作用研究[J]. *水生生物学报*, 2007, 31(1): 9–17.
- [13] 张哲. 湖泊沉积物碱性磷酸酶活性差异及其对磷元素生态效应影响[D]. 石家庄:河北科技大学, 2013.



作者简介:曹建平(1978—), 男, 江西吉安人, 博士, 讲师, 研究方向为水处理技术。

E-mail: jpcao@ecit. cn

收稿日期: 2016–05–27