

结合态磷化氢在厌氧微生物产酸过程中的释放行为

朱益新, 丁丽丽, 任洪强, 王晓蓉*

(南京大学环境学院污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 通过动态实验分别研究了在产甲烷和酸化阶段厌氧污泥中结合态磷化氢的变化, 并采用静态厌氧实验进一步阐明在酸化阶段有机酸的积累对磷化氢的影响及消失速率. 结果表明, 产甲烷阶段, 厌氧颗粒污泥磷化氢浓度随高度升高呈下降趋势; 酸化阶段, 当 pH 达到 4~5 时会导致厌氧反应器颗粒污泥中结合态磷化氢消失. 静态模拟实验研究表明, 随着酸化程度的增加, 厌氧污泥中结合态磷化氢消失速率加快. 厌氧污泥在葡萄糖浓度 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养 2 d 后, 结合态磷化氢浓度从最初的 $1.76\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ 降低到 $0.09\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, 磷化氢消失速率最高达到 $0.84\text{ ng}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$; 而葡萄糖浓度 $400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养 2 d 后, 结合态磷化氢消失速率仅为 $0.27\text{ ng}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$; 随着进一步培养, 当磷化氢浓度降低到一定程度后, 消失速率也相应下降.

关键词: 厌氧; 结合态磷化氢; 酸化; 产酸菌; 颗粒污泥

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)04-0139-04

Fate of Matrix-Bound Phosphine During Acidification with Anaerobic Bacteria

ZHU Yi-xin, DING Li-li, REN Hong-qiang, WANG Xiao-rong

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: Matrix-bound phosphine of anaerobic granular sludge was studied during methanogenic and acidogenic stage of anaerobic reactors. Results showed that at methanogenic stage, the concentration of matrix-bound phosphine of anaerobic sludge decreased as the height of reactor increased. But during acidogenic stage, matrix-bound phosphine disappeared when pH of the solution declined to 4~5. Further anaerobic static experiments showed that increased acidification and lower pH value promoted the decrease of matrix-bound phosphine. After cultivation with $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ glucose synthetic wastewater for two days, the matrix-bound phosphine fell from $1.76\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$ to $0.09\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$; At the same time, the highest disappearing rate of phosphine was reached $0.84\text{ ng}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$. While the glucose synthetic wastewater was $400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the disappearing rate of phosphine was only $0.27\text{ ng}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$. With further cultivation under acidogenic stage, the phosphine decreasing rate slowed down.

Key words: anaerobic; matrix-bound phosphine; acidification; acidogenic bacteria; granular

磷化氢(phosphine, PH_3)是一种具有强还原性的有毒气体,普遍存在于厌氧环境中(如垃圾填埋场、沉积物、污水处理厂等)^[1~7].与碳的还原物甲烷(CH_4)、硫的还原物硫化氢(H_2S)相比,环境中磷化氢的浓度要低几个数量级,仅在 ng 或 pg 的范围^[7].磷化氢在水中溶解度很低($17\text{ }^\circ\text{C}$ 时, 100 mL 水中仅溶解 22.8 mL 气态磷化氢),但沉积物或土壤对磷化氢却有很强的吸附能力^[8,9]. Gassmann 和 Glindemann 在 1993 年首次尝试用酸或碱消解土壤或沉积物,并将其释放出的磷化氢定义为结合态磷化氢(matrix-bound phosphine, MBP)^[10].已有研究表明,厌氧消化污泥中^[11]结合态磷化氢浓度在 $2.4\sim 101.4\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, 港湾(淡水)表层沉积物^[10]结合态磷化氢浓度 $0.2\sim 56.6\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, 土壤^[9]结合态磷化氢浓度在 $0.8\sim 103\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, 富营养化湖泊沉积物中^[12]结合态磷化氢浓度高达 $335\sim 826\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, 从而将磷化氢的研究范畴延伸到固体结合态.厌氧条件下产甲烷菌可将乙酸等物质还原为甲烷,硫酸盐还原菌可将硫酸盐还原为硫化氢.但与

前两者不同的是,磷化氢生成的氧化还原反应为吸热过程^[7],其在厌氧条件下的产生机制仍存在许多争议. Iverson^[13]认为硫酸盐还原菌可将磷酸盐还原为磷化氢; Glindemann^[14]认为磷酸盐首先在一定的条件下通过化学反应而非生化反应生成磷化物(如磷化铁等),磷化物在厌氧产酸代谢物中反应生成磷化氢; Jenkins 等人^[15]研究报道一些混合培养的厌氧微生物(混合酸发酵菌和丁酸发酵菌)和纯种微生物(*Escherichia coli*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella arizonae* 和 *Clostridium sporogenes*, *Clostridium acetobutyricum*, *Clostridium cochliarium*)均能在厌氧培养条件下产生磷化氢.但产酸菌是否产生磷化氢? 过量有机酸的存在对污泥中磷化氢的存在有何影响? 这些问题仍未得到解决.本文

收稿日期: 2004-07-09; 修订日期: 2004-11-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50278041); 江苏省社会发展重点招标项目(BS2002049)

作者简介: 朱益新(1980~),男,硕士研究生,主要从事污染环境化学研究.

* 通讯联系人, E-mail: ekxr@nju.edu.cn

试图通过研究厌氧颗粒污泥产酸过程中结合态磷化氢的行为,以进一步揭示发酵产酸菌在磷化氢产生过程中的作用.

1 材料与方法

1.1 接种污泥

实验用颗粒污泥取自啤酒废水处理的厌氧反应器,粒径 0.1 ~ 2 mm,黑色,污泥的 SS 为 66.45 g·L⁻¹,VSS 为 30.6 g·L⁻¹.

1.2 培养基组成

实验用培养基以葡萄糖为碳源、磷酸二氢钾为磷源,并添加适量微量元素,组成及浓度见表 1.

表 1 合成葡萄糖基质的组成

Table 1 The composition of synthetic medium

营养元素	浓度/ mg·L ⁻¹	微量元素	浓度/ μg·L ⁻¹
葡萄糖	400	FeCl ₃ ·4 H ₂ O	80
(NH ₄) ₂ CO ₃	8	MnCl ₂ ·4 H ₂ O	20
KH ₂ PO ₄	8	NiCl ₂ ·6 H ₂ O	2
NH ₄ Cl	8	EDTA	40
CaCl ₂	0.8	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4 H ₂ O	3.6
MgSO ₄	1.6	CoCl ₂ ·6 H ₂ O	80
NaHCO ₃	132	ZnCl ₂	2
酵母膏	16	CuCl ₂ ·2 H ₂ O	1.2
		H ₃ BO ₃	2
		36 % HCl	0.04/ μL·L ⁻¹

1.3 动态实验

厌氧反应器有效容积 1.8 L,由不锈钢制成,采用 A、B 2 个反应器平行试验.反应器高 1 000 mm,沿柱高设置 8 个取样口,每个取样口间隔 100 mm,反应器安置在恒温箱内,温度控制在 35℃±1℃.试验工艺流程见图 1.取 1.2 L 经筛洗、活化后的颗粒污泥加入厌氧反应器.配制一定体积的葡萄糖培养基于进水箱,再用泵将溶液送至换热器加热,然后从反应器底部进入颗粒污泥床,溶液经微生物消化降解后,经过三相分离器分离,颗粒污泥滞留在反应器中,反应后的溶液从出水口流出.

动态实验分成 2 个阶段:产甲烷阶段、酸化阶段.产甲烷阶段采用葡萄糖浓度 400 mg·L⁻¹的培养基培养,具体基质组成及浓度见表 1.颗粒污泥反应器间歇进水,液体上升流速 4.5 m·h⁻¹,逐步升高进水体积使 COD 容积负荷由 0.5 kg·(m³·d)⁻¹升高到 4 kg·(m³·d)⁻¹,溶液 pH 维持在 7.1,运行时间总计 17 d,酸化阶段采用的培养基组成同产甲烷阶段,将营养物质浓度提高 5 倍,即葡萄糖浓度为 2 000 mg·L⁻¹、磷酸盐浓度 40 mg·L⁻¹培养基培养,溶液进水 pH 为 7.5.通过增加进水体积控制 COD

容积负荷由 4 kg·(m³·d)⁻¹逐渐升高到 16.7 kg·(m³·d)⁻¹,总运行时间 13 d,液体上升流速及进水方式同产甲烷阶段.

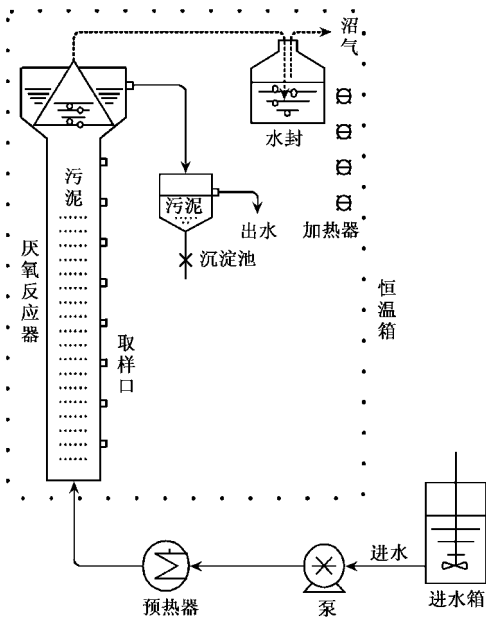


图 1 厌氧反应器系统

Fig.1 Schematic of anaerobic reactor system

1.4 静态实验

100 mL 厌氧颗粒污泥分别移至容积为 600 mL 的注射瓶中,每瓶加入不同浓度的葡萄糖 350 mL (0.400 1 000 2 000 mg·L⁻¹),其它物质的加入相应比例见表 1,其中 0 mg·L⁻¹为空白,即不添加各种营养物.通入高纯氮气 10 min 除氧后密封.最后将注射瓶避光置于培养床上进行厌氧培养,温度控制在 35℃±1℃,转速为 100 r/min.每个实验均有 3 个平行样.

1.5 结合态磷化氢的测定

准确称取 1 g 左右颗粒污泥,利用 2 mol/L 氢氧化钠溶液在加热条件下消解污泥,释放的磷化氢用高纯氮气置换^[10].

气体先通过一个装有固体 NaOH 的干燥管去除酸性气体(如 CO₂、H₂O、H₂S).然后再进入冷阱 1 (由填充有 Porapak Q 的毛细管柱置于液氮环境中形成)将磷化氢与基体(碳氢化合物、氧气)分离开.通过控制六通阀,分离出的磷化氢进入另一段具有相同填料的较细的毛细管柱(冷阱 2)进行再次冷却富集.最终富集的样品进入气相色谱系统分离检测.

气相色谱分析使用 Agilent 4890 (Hewlett Packard),Plot Al₂O₃/Na₂SO₄ 柱(25 m×0.53 mm I.D),柱温恒定在 40℃,检测器温度 220℃.氮气

为载气,流速 $2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,空气流速 $90\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,氢气流速 $4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.检测器为氮磷检测器(Nitrogen Phosphorus Detector, NPD).磷化氢浓度由样品峰与磷化氢标准气体色谱峰面积相比较得出.

2 结果与讨论

2.1 动态实验

2.1.1 产甲烷阶段对厌氧颗粒污泥结合态磷化氢浓度的影响

厌氧反应器以葡萄糖浓度 $400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,磷酸盐浓度 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基进水,pH 为 7.1,控制反应器在产甲烷阶段运行 17 d 后,沿反应器高度取样测定污泥中结合态磷化氢浓度.结果表明(见图 2),颗粒污泥中结合态磷化氢浓度与反应器高度呈现良好的线性递减关系,相关系数 R^2 达到 0.932 4.进水从反应器底部进入,此处颗粒污泥中结合态磷化氢浓度($\text{PH}_3/\text{湿污泥}$)最高,达到 $2.2\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$.在反应器高度为 500 mm 处,结合态磷化氢浓度降为 $0.38\text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}$,是最高浓度的 1/6.随着高度的增加,进水中的碳源和磷源等营养物质被微生物消耗后浓度逐渐降低,使溶液中代谢产物的组成沿高度也发生相应改变,颗粒污泥中结合态磷化氢污泥的产甲烷活性也相应降低. Rutishauser 等人^[14]及 Jenkins^[15]均报道磷化氢的产生与产甲烷过程无关,但产甲烷过程中的代谢副产物是否与磷化氢的生成有关还有待研究.

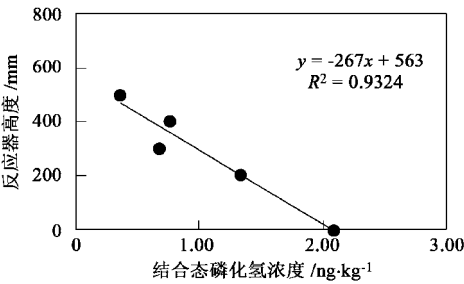


图 2 产甲烷阶段颗粒污泥中结合态磷化氢浓度沿反应器高度分布

Fig. 2 Distribution of matrix-bound phosphine of granular sludge along the height of anaerobic reactor during methanogenic stage

2.1.2 酸化阶段对反应器厌氧颗粒污泥结合态磷化氢浓度的影响

在酸化阶段,将反应器进水浓度提高 5 倍,葡萄糖浓度在 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,磷酸盐浓度 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,增加一次进水体积使 COD 容积负荷由 $6\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 逐渐升高到 $16.7\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$,总运行时间 13 d.整个运行过程中发现,各高度点的 pH 值均已经下降到 4.5 左右(见图 3).同样在运行结

束对反应器各高度污泥进行取样测定结合态磷化氢浓度.结果表明,在 A、B 反应器各高度的颗粒污泥中均未能检测到磷化氢,即污泥中磷化氢浓度已经下降到检测限以下,或者可能已经消失.

为进一步验证厌氧反应器酸化阶段运行时颗粒污泥中磷化氢的消失是否为有机酸过度积累导致结合态磷化氢释放,设计静态酸化厌氧培养实验进一步证实.

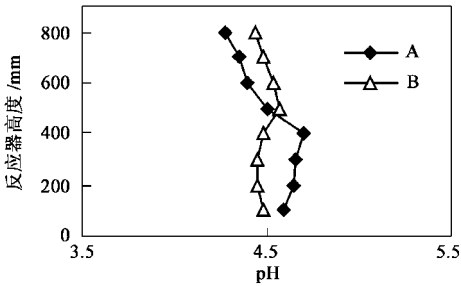


图 3 酸化阶段 pH 沿反应器 A、B 高度分布

Fig. 3 Distribution of pH along the height of reactors during acidogenic stage

2.2 静态实验

静态实验厌氧培养条件模拟动态系统,将培养基按葡萄糖浓度分为 4 个梯度:0、400、1 000、2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.培养基每 d 更换 2 次,每次间隔 10 h.颗粒污泥在培养第 2 d 时,对各浓度梯度培养的颗粒污泥和溶液进行取样分析,测定其中的结合态磷化氢浓度、pH.随后,更换培养基继续培养,第 4 d 进行第 2 次取样分析.

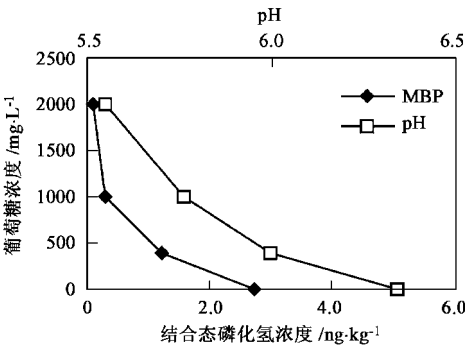


图 4 培养第 2 d 污泥中结合态磷化氢浓度和溶液 pH 随葡萄糖培养基浓度的变化

Fig. 4 Matrix-bound phosphine and pH after cultivation with various glucose synthetic wastewaters for two days

图 4 为颗粒污泥培养第 2 d 时的结合态磷化氢浓度.由图 4 可看出,随着培养基浓度的升高,溶液 pH 明显降低,污泥中结合态磷化氢浓度也相应下降.表 2 列出不同葡萄糖浓度培养基对污泥结合态磷化氢浓度及消失速率的影响.葡萄糖浓度为 2 000

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基培养时,溶液 pH 下降到 5.55,结合态磷化氢降低值也达到最大,从最初的 $1.76 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$ 降低到 $0.09 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$,磷化氢消失速率达到 $0.84 \text{ ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$; $1\ 000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖浓度培养基时溶液 pH 和污泥结合态磷化氢浓度则分别为 5.76 和 $0.31 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$,磷化氢消失速率下降到 $0.73 \text{ ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$;与此相比,400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度梯度时,磷化氢消失速率仅为 $0.27 \text{ ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$.空白组的结合态磷化氢浓度与初始值相比却增加到 $4.06 \text{ ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,这可能与颗粒污泥在处理啤酒废水

表 2 不同葡萄糖浓度培养基对结合态磷化氢浓度及消失速率的影响

葡萄糖浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0	400	1 000	2 000
初始污泥结合态磷化氢浓度/ $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.76	1.76	1.76	1.76
培养第 2 d 结合态磷化氢浓度/ $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1}$	4.06	1.23	0.31	0.09
培养第 4 d 结合态磷化氢浓度/ $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1}$	2.65	0.16	0.06	0.03
结合态磷化氢消失速率 ¹⁾ $a/ \text{ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$	-1.15 ²⁾	0.27	0.73	0.84
结合态磷化氢消失速率 ¹⁾ $b/ \text{ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$	0.71	0.54	0.13	0.03

1) 结合态磷化氢消失速率 $a = (\text{初始值} - \text{第 2 d 测定值}) / 2$; 结合态磷化氢消失速率 $b = (\text{第 2 d 测定值} - \text{第 4 d 测定值}) / 2$. 2) - 表示结合态磷化氢浓度比初始值高.

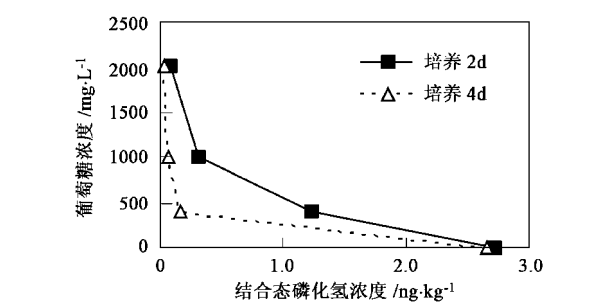


图 5 培养第 2 d 和第 4 d 时污泥中结合态磷化氢浓度随葡萄糖培养基浓度的变化

Fig. 5 Matrix-bound phosphine concentration after cultivation with various glucose synthetic wastewaters for two days and four days

增加,污泥负荷相应增加,导致过度有机酸积累,溶液 pH 下降,从而使结合态磷化氢释放.当磷化氢被释放到一定程度后,其消失速率也相应大幅下降.磷化氢的消失的可能原因:发酵菌在厌氧条件下生成磷化氢的速率远远低于有机酸使磷化氢气体释放速率;或者发酵菌不能在厌氧条件下产生磷化氢.

3 结论

- (1) 产甲烷阶段运行过程中,颗粒污泥磷化氢浓度随反应器高度升高呈下降趋势.
- (2) 过量的有机酸积累会导致厌氧颗粒污泥中磷化氢的消失.
- (3) 颗粒污泥中磷化氢的消失速率随着葡萄糖培养基浓度的增加和酸化程度的增加而加快,进一步培养发现,当磷化氢浓度降低到一定程度后,消失

中自身携带的各种磷化合物之间的转变有关.

经过 4 d 培养后取样分析,结果见图 5,污泥中结合态磷化氢浓度在第 2 d 浓度的基础上再次下降,但此时磷化氢消失速率却与葡萄糖培养基浓度呈相反趋势,即随着培养基浓度的增加,消失速率下降.在葡萄糖浓度 2 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的磷化氢的下降幅度和速率已不是很明显,磷化氢消失速率为 $0.03 \text{ ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$;而葡萄糖浓度 400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的磷化氢消失速率为 $0.54 \text{ ng} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,约为前者的 18 倍.

结果表明酸化阶段时,随着葡萄糖培养基浓度

率也相应下降.

参考文献:

[1] Dévai I, Felföldy L, Wittner I, *et al.* Detection of phosphine: new aspects of the phosphorus cycle in the hydrosphere[J]. Nature, 1988, **333**(26): 343 ~ 345.

[2] Dévai I, DeLaune R D, Dévai G, *et al.* Phosphine production potential of various wastewater and sewage sludge sources[J]. Analytical Letters, 1999, **32** (7): 1447 ~ 1457.

[3] Cao H F, Liu J A, Zhuang Y H, Glindemann D. Emission sources of atmospheric phosphine and the stimulation of phosphine formation[J]. Sci Chin Series B, 2000, **30**(1): 63 ~ 68.

[4] Glindemann D, *et al.* Phosphine in the lower terrestrial troposphere. Naturwissenschaften[J], 1996, **83**(3): 131 ~ 133.

[5] Glindemann D, Stottmeister U, Bergmann A. Free phosphine from the anaerobic biosphere[J]. Environmental Science & Pollution Research, 1996, **3**(1): 17 ~ 19.

[6] Glindemann D, Bergmann A. Spontaneous emission of phosphine from animal slurry treatment processing[J]. Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin, 1995, **198**: 49 ~ 56.

[7] Roels J, Verstraete W. Biological formation of volatile phosphorus compounds[J]. Bioresource Technology, 2001, **79**(3): 243 ~ 250.

[8] Burford J R, Bremner J M. Is phosphate reduced to phosphine in waterlogged soils? [J]. Soil Biol. Biochem., 1972, **4**: 489 ~ 495.

[9] Eismann F, Glindemann D, *et al.* Soils as source and sink of phosphine[J]. Chemosphere, 1997, **35**(3): 523 ~ 533.

[10] Gassmann G, Glindemann D. Phosphine (PH₃) in the biosphere [J]. Angewandte Chemie: international edition in English, 1993, **32** (5): 761 ~ 763.

[11] Roels J, van Langenhove H, Verstraete W. Determination of phosphine in biogas and sludge at ppt-levels with gas chromatography-thermionic specific detection[J]. Journal of Chromatography A, 2002, **952**: 229 ~ 237.

[12] 王晓蓉,丁丽丽,牛晓君,任洪强. 磷化氢在湖泊磷生物地球化学循环中的作用[J]. 环境化学, 2003, **22**(5): 485 ~ 489.

[13] Iverson W P. Corrosion of iron and formation of iron phosphide by Desulfovibrio desulfuricans[J]. Nature, 1968, **217**: 1265 ~ 1267.

[14] Glindemann D, *et al.* Phosphine by Bio Corrosion of Phosphide-Rich Iron[J]. Environ. Sci. & Pollut. Res., 1998, **5**: 71 ~ 74.

[15] Jenkins R O, *et al.* Phosphine generation by mixed and mono-specific cultures of anaerobic bacteria[J]. The Science of Total Environment, 2000, **250**: 73 ~ 81.