

太湖部分区域沉积物中磷化氢和微生物的分布

耿金菊¹, 王强¹, 金相灿², 王晓蓉^{1*}

(1. 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; 2. 中国环境科学研究院, 北京 100012)

摘要: 测定了太湖柱状沉积物中磷化氢和表层沉积物中微生物, 分析了表层沉积物中磷化氢和各种代表性微生物的相关性。结果表明, 磷化氢在太湖柱状沉积物中普遍存在, 其浓度范围为 0.15~36.1 ng/kg, 磷化氢的含量随沉积物取样深度和点位的不同而变化。表层沉积物中的代表性微生物在不同点位的分布差异较大, 微生物的数量和分布与沉积物污染程度、营养盐状况有关。表层沉积物中磷化氢与微生物(好氧细菌、厌氧细菌、放线菌、有机磷细菌和无机磷细菌)的相关性分析表明磷化氢与无机磷细菌呈显著正相关($R^2 = 0.817$, $n = 6$), 而与有机磷细菌则没有明显的相关性($R^2 = 0.008$, $n = 6$)。

关键词: 磷化氢; 微生物; 相关性; 太湖; 沉积物

中图分类号: X171; X524 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)01-0105-05

Distribution of Phosphine and Microorganisms in Partial Sediments of Lake Taihu

GENG Jin-ju¹, WANG Qiang¹, JIN Xiang-can², WANG Xiao-rong¹

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Abstract: Phosphine in Lake Taihu sediment cores were monitored by a GC/NPD method, coupled with cryo-trapping enrichment technology. Results show that phosphine is universally detected in sediment cores, its concentration ranges from 0.15 ng/kg to 36.1 ng/kg. The concentration of phosphine varies with different sampling sites and depths. Representative microorganisms (aerobic bacteria, anaerobic bacteria, actinomycete, inorganic phosphobacteria and organic phosphobacteria) in surface sediments were also identified. The amount and distribution of microorganisms positively correlate with different contamination and salty levels of the samples. A markedly positive linear correlation between the concentration of phosphine and the numbers of inorganic phosphobacteria could be observed ($R^2 = 0.817$, $n = 6$). There is not a correlation between phosphine level and organic phosphobacteria quantities.

Key words: phosphine; microorganisms; correlativity; Lake Taihu; sediments

磷化氢作为磷循环的一种还原态挥发性气态形式, 已被证实为自然界中普遍存在的痕量气体, 其在环境中以游离态(gaseous phosphine)和基质结合态(matrix bound phosphine) 2 种形式存在^[1]。自然环境中磷化氢的发现是对磷生物地球化学循环的重要补充, 它在磷循环中的地位和作用及其产生机制开始成为人们关注的热点。

有关磷化氢的形成机制, 多年来一直是人们争议的焦点。Eismann 等人^[2]的研究表明土壤中磷化氢的生成与各种微生物的代谢有关, 但其内在机理尚未清楚; Jenkins 等人^[3]也证实一些微生物菌群的混合培养能产生磷化氢。然而 Skinner^[4]却对微生物还原磷酸盐生成磷化氢的能力表示质疑, 他们未能检测到磷酸盐还原菌的存在, 这表明细菌还原磷酸盐或者有机磷化物生成磷化氢的过程尚未定论。Glindemann 等人^[5]提出新的磷化氢形成机制的假设来解释地球上为何普遍存在磷化氢, 指出磷酸盐是铁矿中的一种杂质, 其通过非生命的化学反应被还原为磷化铁。当铁矿被暴露于环境中(如微生物代谢活动所控制的含水基质中)并发生腐蚀反应时, 铁

矿中的磷化铁会被水解为磷化氢, 微生物可加快这一进程; Roels^[6]也证实磷化氢的产生与金属腐蚀有关。到目前为止, 有关磷化氢形成的确切机理尚无定论, 只能确定为由微生物参与的含磷物质的转化过程^[7]。

近年来, 磷在湖泊富营养化中的作用得到了广泛的关注, 但以往的研究中均未曾考虑磷化氢的存在及其在湖泊磷循环中所起的作用, 基于此有必要对富营养化湖泊中磷化氢的存在和分布特点给予研究。微生物在整个湖泊水域的生态系统中及元素的生物地球化学循环中均起着重要作用, 了解微生物的数量及分布对全面了解太湖水域中元素的地球化学循环有积极意义。

本文研究了磷化氢在太湖柱状沉积物中的分布情况, 测定了表层沉积物中代表性微生物的数量, 分

收稿日期: 2005-01-01; 修订日期: 2005-02-22

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB412304); 国家自然科学基金资助项目(20177007); 教育部科学技术重点项目(03079)

作者简介: 耿金菊(1978~), 女, 博士, 主要从事水体富营养化和环境污染化学等方面的研究。

* 通讯联系人

析了湖泊表层沉积物中磷化氢与微生物的相关性. 研究结果可为探讨湖泊沉积物中磷化氢的形成机理提供一定的参考.

1 材料与方法

1.1 太湖水域采样点位和样品的采集

根据太湖沉积物分布的特点及湖泊富营养化状况, 利用全球卫星定位系统(GPS)定位, 2004-03 分别在太湖 A、B、C、D 和 E 布点(图 1), 各个采样点的经纬度见表 1. 用彼得森采泥器采集表层底泥样; 用柱状采样器采集柱状样, 采样后按 0~2 cm, 2~4 cm, 4~6 cm, 6~8 cm 和 8~10 cm 分割. 所有样品均在 0~4 °C 下避光储存, 并及时分析其中磷化氢和微生物的量. 各采样点的理化性质见表 2.

表 1 太湖各采样点的经纬度

Table 1 The longitude and latitude of sampling sites in Lake Taihu

编号	采样点	经纬度
A	贡湖	N31°25'11" E120°15'6"
B	小丁湾	N31°26'47" E120°12'16"
C	鼋头渚	N31°31'21" E120°12'45"
D	梅园东北	N31°32'10" E120°12'38"
E	东太湖	N31°13'16" E120°27'9"

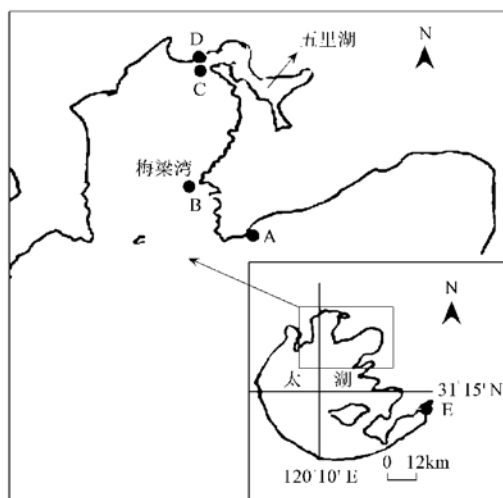


图 1 太湖采样点

Fig. 1 Sketch map of sampling sites in Lake Taihu

1.2 分析方法

1.2.1 吸附态磷化氢的释放

称取 1 g 左右沉积物样, 用 5 mL 浓度为 0.5 mol/L 硫酸加热消解 5 min, 释放出的磷化氢气体用高纯氮气置换出^[8], 经气相色谱分析.

1.2.2 磷化氢气体分析方法

表 2 太湖各采样点的基本理化性质

Table 2 Physical and chemical properties about sampling sites in Lake Taihu

点位	A	B	C	D	E
pH	8.16	8.07	7.82	7.74	8.25
DO/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	14.0	13.0	9.4	6.3	13.8
水深/m	1.4	1.6	1.5	0.8	1.2
水温/°C	11.9	12.2	13.2	13.5	13.0
沉积物总磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	656	701	1028	1694	498
沉积物有机质/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	1.82	2.31	2.67	3.31	4.41

(1) 仪器 Agilent 4890D 气相色谱仪装有氮磷检测器(NPD), 色谱柱为 Crosslinked 5 % Ph Me Silicone 毛细管柱(25 m $\times$ 0.2 mm $\times$ 0.33 μm , Hewlett Packard), 冷阱为 $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Na}_2\text{SO}_4$ 毛细管柱(80 cm $\times$ 0.53 mm, trap 1; 20 cm $\times$ 0.32 mm, trap 2, Hewlett Packard); 本实验用的主要试剂有: 吸附在多孔载体上的固体 NaOH 干燥剂(Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany), 冷却用液氮(南京大学制冷实验室提供).

(2) 分析方法 采用柱前 2 次低温冷阱富集-气相色谱/氮磷检测器联用技术分析磷化氢的量^[9], 文中数据均为 3 次测定结果的平均值, 以 ng/kg 表示.

1.2.3 微生物的培养与计数

(1) 预处理 取泥样 10 g, 加入盛有 90 mL 无菌水的三角瓶中, 振荡 30 min, 摇匀, 然后按梯度稀释, 培养计数; 同时称取一定量的泥样烘干测含水量, 结果以每 g 干泥所含的微生物数量来表示.

(2) 微生物数量测定 好氧细菌数量的测定: 营养肉汤培养基, 稀释涂平板法^[10]; 厌氧细菌数量的测定: 高泽有机氮培养基^[11], 平皿夹层厌氧法^[12]; 放线菌数量的测定: 高氏一号培养基, 稀释涂平板法^[10]; 无机磷细菌和有机磷细菌的测定: 蒙金娜培养基, 稀释涂平板法^[13].

2 结果与讨论

2.1 太湖沉积物柱状样中的磷化氢

太湖不同采样位点沉积物柱状样中磷化氢的分布如图 2 所示. 从图 2 中可见, 在所有采样位点的沉积物柱状样中均检测出磷化氢, 含量在 0.15~36.1 ng/kg 之间, 最大值出现在 D 点 4~6 cm 沉积物样中, 最小值则出现在 A 点 8~10 cm 沉积物样中. 磷化氢的浓度随沉积物采样站点和采样深度不同而变化. 在取样深度范围内, 5 个柱状样中磷化氢平均含量(ng/kg)的顺序为 D(17.1) > E(8.2) > C(3.4) >

B(1.4) > A(0.8), 磷化氢的这一空间分布与采样点位沉积物的受污染程度和沉积环境有关。

5 个采样点总磷平均含量(mg/kg)由高到低的顺序为: D(1694) > C(1028) > B(701) > A(656) > E(498)。空间位点上(除 E 点外), 磷化氢含量高低与总磷浓度相一致, 总磷浓度高的地方, 水体富营养化严重, 微生物活动将不同形态的磷转化为磷化氢的活动亦频繁, 磷化氢浓度相应也高, 因此, 磷化氢可作为沉积物中总磷浓度的一个指示物。E 点的高磷化氢含量则与当地的高有机质含量有关(表 2), 有机质含量高时, 微生物活动加剧, 大量的微生物活动加速了含磷底物生成磷化氢的水平^[14]。

同一采样位点, 磷化氢沿垂直方向呈锯齿形分布, 即表层沉积物(0~2 cm)和中间层沉积物(4~6 cm)磷化氢含量较高, 次表层(2~4 cm)磷化氢浓度均出现了不同程度的下降, 底层磷化氢的分布较复杂。表层磷化氢含量高与表层沉积物受外源污染较严重有关; 另一方面也可能与磷化氢由沉积物底层释放后向表层迁移有关。沉积物中的磷化氢在一定条件下可不断向水体和大气中迁移, 磷化氢进入水体和大气后极易被氧化成次磷酸盐、亚磷酸盐和磷酸盐, 这些磷酸盐可重新返回水体参与磷的生物地球化学循环并加剧湖泊富营养化进程^[15]。Lewis 等人^[16]已证实夏季发生的剧烈磷沉降主要是一些水溶性、可透过滤纸的含磷化合物, 其来源与微生物活动产生的气态含磷化合物有关。

沉积物中磷化氢的产生与释放与多种因素有关, 除了与主要的含磷底物、厌氧环境和微生物等因素有关外, 还与沉积物的理化性质(pH 值、温度、有机质组分、无机盐状态等)有关, 正是这种多因素的综合作用, 出现了图 2 的分布结果。

2.2 太湖表层沉积物中的代表性微生物

表 3 为太湖表层沉积物中代表性微生物(好氧细菌、厌氧细菌、放线菌、有机磷细菌和无机磷细菌)的分布情况。由表 3 可看出微生物在不同站点的分布差异较大。在所有采样位点内, 微生物的分布次序分别为: 异养细菌(好氧细菌和厌氧细菌的总和) C > E > D > B > A; 放线菌 A > C > B > D > E; 有机磷细菌 D > B > A, C > E; 无机磷细菌 D > C > E > A > B。

异养细菌的分布取决于沉积物中有机物污染程度^[17], C 点(鼋头渚)污染较严重, 而 E 点为水产养殖区有机质含量高, 因而这些地方的异养细菌总量相对较高。放线菌多数种类能产生抗菌素, 在水质较

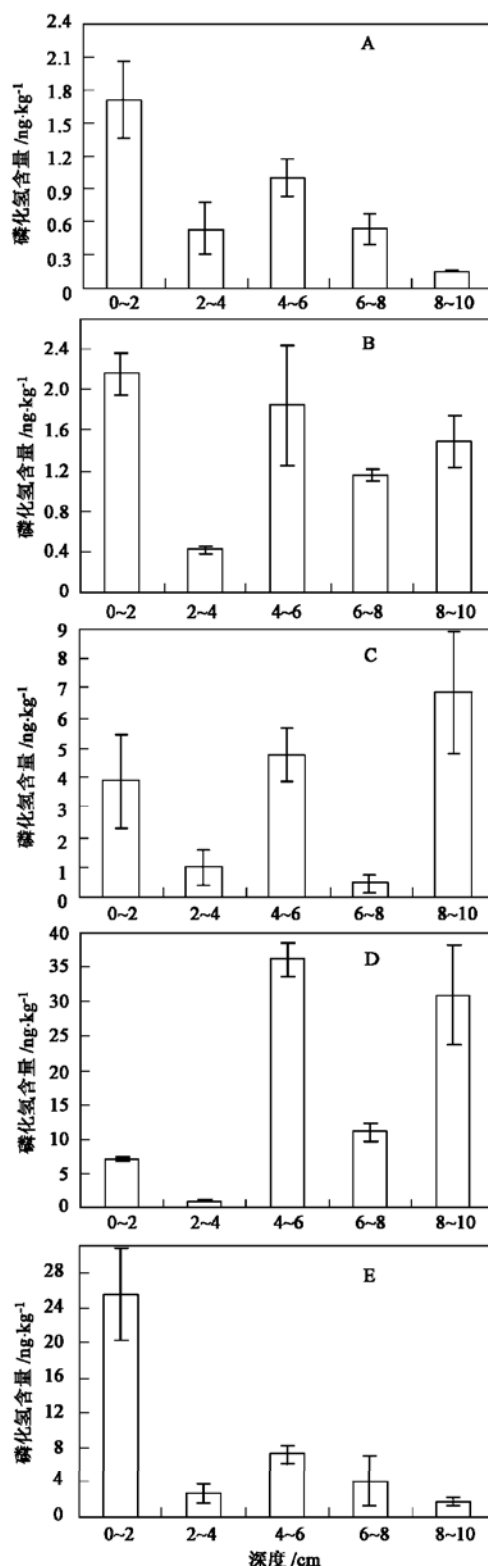


图 2 太湖不同采样点位沉积物柱状样中磷化氢的分布

Fig. 2 Distribution of phosphine in different sampling sites of Lake Taihu sediment cores

好的地方放线菌数量相对较多, 如 A 点(贡湖)。磷细菌能将沉积物中难溶性的磷酸盐转化为水溶性形

态,其分布与沉积物磷负荷有关,D点的总磷水平显著高于其余采样点位的总磷水平,其有机磷细菌和无机磷细菌均较多.在所有采样点位,太湖表层沉积物中有机磷细菌的数量均高于无机磷细菌.沉积物中微生物的数量和分布与基质的理化状况,基质中营养物含量,生物拮抗捕食作用等因素均有关,要详细清楚的阐述其机理,还需要进行长期深入的研究.

表 3 太湖不同采样点位表层沉积物中微生物的分布/个·g⁻¹

Table 3 Distribution of microorganisms in different sampling sites of Lake Taihu surface sediments/ numbers·g⁻¹

采样点	好氧细菌	厌氧细菌	放线菌	有机磷细菌	无机磷细菌
A	1.50E+ 06	2.10E+ 06	8.30E+ 06	1.30E+ 06	1.40E+ 04
B	7.40E+ 05	5.30E+ 05	2.50E+ 05	3.70E+ 06	1.30E+ 03
C	2.70E+ 06	2.80E+ 05	6.80E+ 05	1.30E+ 06	2.10E+ 05
D	6.10E+ 05	1.20E+ 06	2.30E+ 05	6.70E+ 06	1.30E+ 06
E	1.90E+ 06	4.30E+ 05	2.40E+ 03	1.20E+ 06	5.10E+ 04

2.3 太湖表层沉积物中代表性微生物和磷化氢的相关性

为了探讨沉积物中磷化氢的产生原因,对表层沉积物中磷化氢与代表性微生物(好氧细菌、厌氧细菌、放线菌、有机磷细菌和无机磷细菌)的相关性进行了分析(图 3),其相应的相关性方程归纳于表 4.根据统计原理,当样本数为 6 时,在 95% 的置信水平上,回归方程的系数 R 必须达到 0.811,即 R^2 达到 0.658 时,该方程才是可信的.因此,在 95% 的置信水平上,磷化氢与无机磷细菌显著正相关;与厌氧细菌的相关程度次之;而与有机磷细菌和好氧细菌呈负相关,但极不显著;与放线菌的相关程度最弱.

表 4 太湖表层沉积物中磷化氢与微生物的相关性方程

Table 4 The correlation equation between phosphine and microorganisms in Lake Taihu surface sediments

微生物 $x/\text{个}\cdot\text{g}^{-1}$	磷化氢 $y/\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$	R^2
无机磷细菌	$y = 7\text{E-}06x + 22.34$	0.817
厌氧细菌	$y = 1\text{E-}05x - 2.208$	0.550
有机磷细菌	$y = -2\text{E-}06x + 22.34$	0.031
好氧细菌	$y = -4\text{E-}06x + 22.27$	0.017
放线菌	$y = 7\text{E-}07x + 15.03$	0.008

沉积物磷化氢与无机磷细菌相关性显著可能是由于沉积物中存在的磷形态大部分为难溶性的无机磷酸盐,无机磷细菌含量丰富时,其将难溶的无机磷转化为水溶性磷酸盐的速度加快,生物可利用的活性磷增加后,活性磷被还原成磷化氢的量相应也增加.牛晓君^[18]分析了太湖 25 个沉积物样品中不同磷形态与磷化氢的相关关系时也发现磷化氢与无机

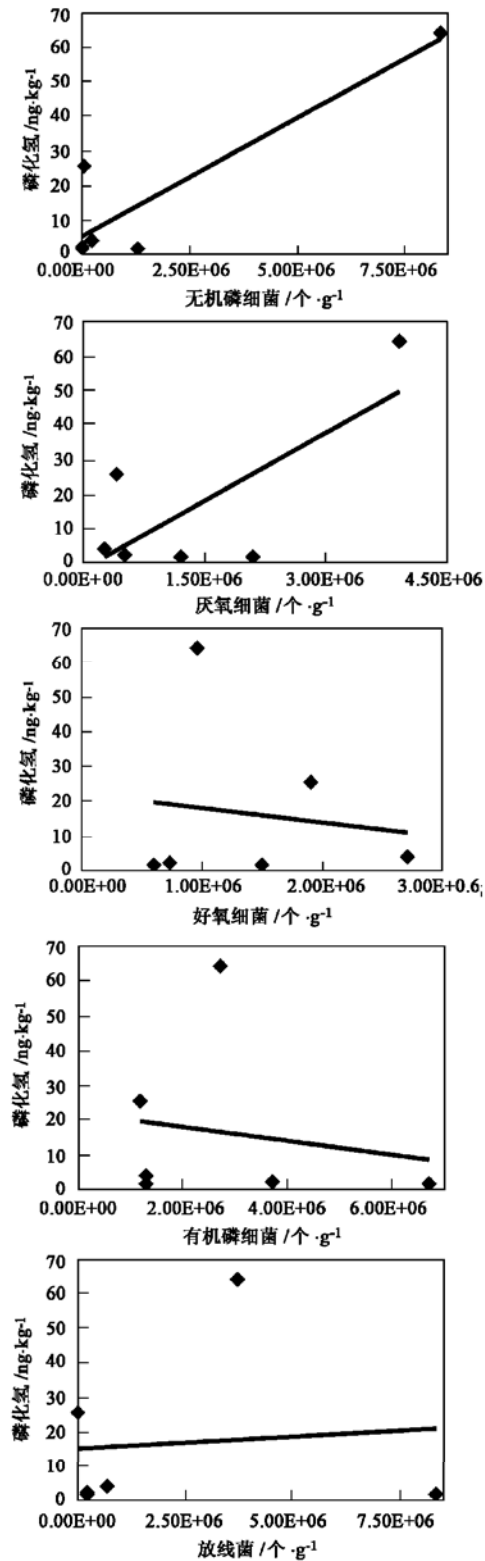


图 3 太湖表层沉积物中磷化氢与微生物的回归分析

Fig. 3 Regression analysis between phosphine and microorganisms in Lake Taihu surface sediments

磷呈显著正相关,而与有机磷的相关性则不显著.磷化氢与厌氧细菌之间的相关性也较好,表明沉积物

中的磷化氢可能是由厌氧微生物的活动产生的. 由于本文测定的是厌氧细菌的总数, 而非专一性的产磷化氢微生物, 所以它们之间的相关程度不是很显著.

本文的研究表明磷化氢与有机磷细菌之间的相关性较差, 但有些报道却指出磷化氢可能是某些厌氧细菌分解有机磷的结果^[19], 因此本文仅在一定程度上表明无机磷有作为磷化氢前体物的可能性, 有关磷化氢生成的确切前体物和其生成机理还有待于进一步研究.

3 结论

(1) 磷化氢在太湖柱状沉积物中普遍存在, 含量在 0.15~36.1 ng/kg 之间, 最大值出现在 D 点 4~6 cm 沉积物样中, 最小值则出现在 A 点 8~10 cm 沉积物样中. 磷化氢的空间分布和垂直分布与沉积物污染程度和沉积环境均有关.

(2) 沉积物中代表性微生物(好氧细菌、厌氧细菌、放线菌、有机磷细菌和无机磷细菌)的数量和分布可反映出沉积物的污染状况和营养盐水平, 在有机物污染严重的地方, 异养细菌的数量较多.

(3) 磷化氢与微生物的相关性分析表明磷化氢与无机磷细菌显著正相关, 与厌氧细菌的相关程度次之, 与有机磷细菌则无明显的相关性.

致谢: 中国环境科学研究院协助采样并提供了部分基础数据, 在此表示感谢.

参考文献:

- [1] 俞志明, 宋秀贤. 一种海洋环境中易被忽略的磷化合物——磷化氢[J]. 海洋与湖沼, 2002, **33**(5): 562~567.
- [2] Eismann F, Glindemann D, Bergmann A, *et al.* Soils as source and sink of phosphine[J]. Chemosphere, 1997, **35**(3): 523~533.
- [3] Jenkins R O, Morris T A, Craig P J, *et al.* Phosphine generation by mixed and monoseptic culture of anaerobic bacteria[J]. The Science of the Total Environment, 2000, **250**: 73~81.
- [4] Skinner F A. The anaerobic bacteria of soil[A]. In: Gray T R G, Parkinson D. The ecology of soil bacteria[C]. England: Liverpool University Press, 1968. 573~592.
- [5] Glindemann D, Eismann F, Bergmann A, *et al.* Phosphine by bio-corrosion of phosphide-rich iron[J]. Environmental Science and Pollution Research, 1998, **5**(2): 71~74.
- [6] Roels J, Verstraete W. Occurrence and origin of phosphine in landfill gas[J]. Science of the Total Environment, 2004, **327**: 185~196.
- [7] Roels J, Verstraete W. Biological formation of volatile phosphorus compounds[J]. Bioresource Technology, 2001, **79**: 243~250.
- [8] Glindemann D, Bergmann A. Spontaneous emission of phosphine from animals slurry treatment processing [J]. Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin, 1995, **198**: 49~56.
- [9] 牛晓君, 耿金菊, 王晓蓉. 太湖水域 PH_3 的时空变化特征[J]. 环境科学学报, 2004, **24**(2): 255~259.
- [10] 无锡轻工大学. 微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1997. 596~597.
- [11] 中国科学院林业土壤研究所微生物室. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 科学出版社, 1960. 3~14.
- [12] 穆军, 张肇铭. 一种分离纯化厌氧细菌分离的新方法——平皿夹层厌氧法[J]. 山西大学学报(自然科学版), 1998, **21**(4): 363~367.
- [13] 陈绍铭, 郑福寿. 水生微生物学实验法[M]. 北京: 海洋出版社, 1985. 94~95.
- [14] 俞志明, 宋秀贤. 基质结合态磷化氢: 胶州湾沉积物中新发现的一种磷化物存在形式[J]. 科学通报, 2002, **47**(20): 1596~1599.
- [15] Niu X J, Geng J J, Wang X R, *et al.* Temporal and spatial distributions of phosphine in Taihu Lake, China[J]. Science of the Total Environment, 2004, **323**: 169~178.
- [16] Lewis W M, Grant M C, Hamilton S K. Phosphorus cycling in the Rocky Mountains of Colorado[J]. Oikos, 1985, **45**: 428~438.
- [17] 吴根福, 吴雪昌, 吴浩, 等. 杭州西湖水域微生物的生态调查[J]. 水生生物学报, 2000, **24**(6): 589~595.
- [18] 牛晓君. 湖泊底泥磷化氢释放及其对水体富营养化的影响[D]. 南京: 南京大学, 2003.
- [19] Cook A M, Daughton C G, Alexander M. Phosphonates utilization by bacteria[J]. Journal of Bacteriology, 1978, **133**(1): 85~90.