

溶解性多聚磷酸盐 (poly-P) 在太湖竺山湾湖区底泥-水界面的降解和影响因素初探*

张云帆^{1,2}, 蔡健霞¹, 童丞飞¹, 周梓怡¹, 郑尚杰^{1,3}, 郭柳佳^{1,2}, 古小治^{1**}

(1: 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 湖泊与环境国家重点实验室, 南京 211135)

(2: 中国科学院大学, 北京 100049)

(3: 南京师范大学环境学院, 南京, 210023)

摘要:多聚磷酸盐 (poly-P, 简称聚磷) 作为一种生物体普遍存在且生物活性高的磷组分, 在富营养化水体的磷生物地球化学循环中至关重要。为探明聚磷在湖体沉积物-水界面及水体降解转化过程及其与湖底关键环境因子响应过程, 采集太湖竺山湾水域原位样品模拟近自然条件下聚磷在湖体降解与转化过程。结果表明, 在近自然条件下, 溶解性聚磷的短期水解没有明显的受限, 随浓度提高而增高, 2d 后高浓度聚磷水解产生的溶解性磷酸盐 (SRP) 浓度增长可达到 $0.1 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}$ 。聚磷的水解主要以生物降解为主, 影响其降解速率的主要因素为溶解氧、碳源、温度以及水动力扰动导致的底泥再悬浮过程, 低溶解氧浓度能够加速聚磷的水解进程, 并使得 SRP 浓度提前 12h 达到峰值; 碳源的添加能够略微增加聚磷的水解速率, 并能够再培养周期内持续促进 SRP 的释放, 净增长量达到对照组的 2 倍; 低温能够显著减缓聚磷的水解速率, 但整体 SRP 浓度仍然处于升高状态; 扰动导致的底泥再悬浮能够增加聚磷的水解速率, 并能够提高 SRP 浓度峰值。聚磷在沉积物主要以强结合态存在于 Al-P 组分中并不断释放和进一步水解, 仅微量以游离态赋存于沉积物和间隙水。溶解性聚磷在近自然条件能够在 48h 内迅速沉降水解, 并对水体 SRP 升高持续贡献。本研究水体聚磷的赋存特性及快速水解周转成果, 为厘清夏秋季节的湖体藻细胞指数增殖期的活性磷供给源, 以及阐明多聚磷参与水体磷循环的生物地球化学过程提供了支撑。

关键词: 多聚磷酸盐 (poly-P)、水解、沉积物、太湖、溶解性活性磷 (SRP)

Preliminary Investigation of Soluble Polyphosphate (poly-P) Degradation and Its Influencing Factors at the Sediment-Water Interface in Zhushan Bay, Lake Taihu

ZHANG Yunfan^{1,2}, CAI Jianxia¹, TONG Chengfei¹, ZHOU Ziyi¹, ZHENG Shangjie^{1,3}, GUO Liujia^{1,2}, GU Xiaozhi^{1**}

(1: State Key Laboratory of Lake and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, P.R.China)

(2: University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, P.R.China)

(3: School of Environment, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, P.R.China)

* 2024-10-14 收稿; 2024-12-10 收修改稿。

国家自然科学基金面上项目(42177227)、江苏省社会发展项目(BE2022858)和地方项目 (HLZC2024009) 联合资助。

**通讯作者邮编: xzgu@niglas.ac.cn。

Abstract: Polyphosphate (poly-P), a phosphorus component that is widely present in organisms and exhibits high biological activity, plays a critical role in the biogeochemical cycling of phosphorus in eutrophic water bodies. To elucidate the degradation and transformation processes of poly-P at the sediment-water interface and within the water column, as well as its response to key environmental factors in lake sediments, in situ samples were collected from the Zhushan Bay area of Lake Taihu. These samples were used to simulate near-natural conditions for studying the degradation and transformation of poly-P. The results indicated that under near-natural conditions, the short-term hydrolysis rate of dissolved poly-P showed no obvious upper limit and increased with rising concentrations. After two days, the SRP (soluble reactive phosphorus) concentration generated by the hydrolysis of high-concentration poly-P could reach $0.1 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}/\text{d}$. The hydrolysis of poly-P was primarily driven by biological degradation, with key factors influencing the degradation rate including dissolved oxygen, carbon sources, temperature, and sediment resuspension caused by disturbances. Low dissolved oxygen concentrations accelerated the hydrolysis of poly-P and brought the SRP concentration to its peak 12 hours earlier. The addition of carbon sources slightly increased the hydrolysis rate and promoted sustained SRP release throughout the incubation period, with a net increase reaching twice that of the control group. Low temperatures significantly reduced the hydrolysis rate, although the overall SRP concentration continued to rise. Disturbances that led to sediment resuspension increased both the hydrolysis rate of poly-P and the peak SRP concentration. In the sediment, poly-P mainly existed in a strongly bound form within the Al-P fraction, undergoing continuous release and further hydrolysis, while only trace amounts were present as free poly-P in the sediment and pore water. Dissolved poly-P could rapidly settle and hydrolyze within 48 hours under near-natural conditions, contributing to the sustained supply of SRP to the water column. This study on the occurrence and rapid hydrolytic turnover of poly-P in the water column provides insights into tracing and clarifying the sources of active phosphorus that fuel algal cell proliferation during the summer and autumn seasons. It also sheds light on the biogeochemical processes involving polyphosphate in the phosphorus cycle of water bodies.

Keywords: Polyphosphate, Hydrolysis, Sediment, Lake Taihu, Soluble Reactive Phosphorus(SRP)

多聚磷酸盐 (poly-P, 简称聚磷) 是一种能够由所有生物体合成的磷化合物, 通过至少三个磷酸根离子由磷酸酐(P-O-P) 键链接^[1,2], 以链状、环状 (即偏磷酸盐) 或支链结构出现^[3,4]。聚磷既可存在于细胞外, 也可在细胞内留存^[5]。在常见的细胞事件, 如细胞外释放、裂解、死亡和微生物的掩埋等过程中, 多聚磷酸盐能被释放到水体并下沉进入沉积物中^[6,7,8]。多聚磷酸盐在溶解相、颗粒物和沉积物中均存在^[9,10], 多聚磷酸盐占浮游生物中总磷的 1-13%^[11,12], 土壤中的多聚磷酸盐占总磷的 0.4-7%^[13]。在富营养化水体中的颗粒物和沉积物中均能检测到大量多聚磷酸盐^[14,15], 海水中溶解和颗粒态的磷库以及海洋沉积物中也均发现聚磷酸盐^[16]。据估计, 大约 $6.9 \text{ g 聚磷}/\text{m}^2/\text{a}$ 沉积到地表沉积物中, 在 TP 成分中具有较高占比^[16]。沉积物中聚磷所释放的含 P 化合物, 通常被认为是内部磷负荷的潜在来源, 以解释在缺氧条件下沉积物磷通量增强的原因; 同时进一步导致底栖食物链磷负荷的增加, 并影响沉积物中永久的磷沉积^[17,18]。

尽管多聚磷酸盐在全球磷循环中具有工业和生物地球化学意义, 但关于其降解和成岩作用的速率和机制仍有很多未知之处。以往研究已跟踪了多聚磷酸盐在生物地球化学研究中的相关分布, 发现多聚磷酸盐在沉积物中超过 0.5 cm 的深度迅速消失, 表明聚磷迅速转化或被分解再利用^[17]。多聚磷酸盐的再矿化在好氧/缺氧界面处贡献了很大一部分可溶性活性磷, 这表明多聚磷酸盐在该区域的磷循环中起着重要作用^[5]。然而, 目前尚未清楚多聚磷酸盐在自然条件下的降解速率及其影响因素, 以及各项环境因素对其降解的重要性。本文详细分析了链状多聚磷酸盐在近自然培养条件下水解的速率和其主要影响因素, 厘清不同因素对多聚磷酸盐在沉积物和水体中分解比例分配的影响, 探究聚磷在沉积物中转化的主要形态, 为溶解性

多聚磷酸盐在湖泊泥水界面的迁移和水解机制提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 研究区域与样品采集

太湖是中国第三大淡水湖，浅水富营养湖泊，位于中国工业化程度最高的地区——长江三角洲，表面积 2338 km²，平均深度 1.9 m，最大深度 2.6 m。

自 20 世纪 80 年代以来，太湖北部竺山湾和梅梁湾藻华发生的频率和强度不断增加，近两年藻类优势仍在扩增。竺山湾湖区既有上游河流入水，湾北部也有自然湿地，藻类堆积与死亡加重区域的内源负荷，是一个典型的研究区域^[19]。

2023 年 11 月至 12 月期间，在太湖竺山湾中心区域选取 2 个点位，使用彼得森采泥器（φ110 mm×500 mm，Rigo 公司）和 25L 聚乙烯塑料桶分别采集表层沉积物和现场湖水样品。所有样品在运输过程中均在 4°C 条件下冷藏储存。样品返回实验室后立即进行处理。所采集的沉积物和湖水样品在预处理后充分混合均匀以备实验使用。

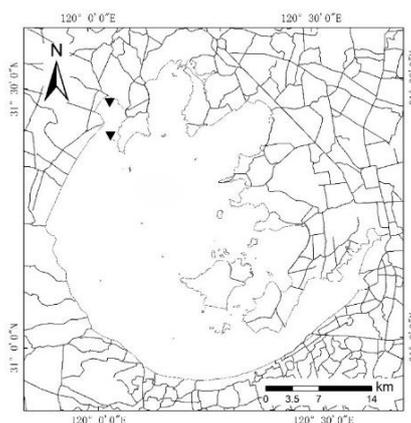


图 1 太湖竺山湾沉积物和水样采集点位分布
Fig.1 Distribution of Sediment and Water Sampling Sites in Zhushan Bay, Lake Taihu

1.2 系列培养实验条件设置

本研究所需的平均链长 45 的多聚磷酸盐 (45-polyP) 采购自 sigma-Aldrich (货号 S4379)，4',6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 采购自阿拉丁 (货号 D489987)，多聚磷酸盐在使用时配置为 2 mg/mL 的溶液加入培养瓶中，DAPI 配置 100mM 的溶液避光冷藏备用。

根据已有研究证实，聚磷水解酶 (PPX)^[20]、磷酸酶^[21]以及氧化铝(矿物)^[22]均能够参与到聚磷 (polyP) 的水解作用中，且聚磷在上述三者参与的水解过程中均为末端水解、且水解产物均为正磷酸盐，因此，在实验过程中通过检测聚磷的浓度表征聚磷的水解情况，并借助测定上覆水中的溶解性活性磷 (SRP) 浓度变化来表征聚磷水解后的短期环境效应。

1.2.1 聚磷在近自然水体中的分解 (1) 不同聚磷浓度在水体中分解特性研究：锥形瓶中加入 250 ml 湖水，并添加不同质量的 45-polyP 使湖水中 poly-P 浓度分别达到 1、5、10、25、50 mg/L，使用组培封口膜封口后进入培养阶段。在培养时间 12、24、36、48、60、72h 时采集水样检测水中 SRP 的含量，探究不同浓度聚磷在水中分解特性。(2) 聚磷在不同环境条件下的分解特性研究：根据第一阶段实验结果，锥形瓶中加入 200 ml 湖水和定量 (5 mg) 45-polyP，使用组培封口膜封口并培养。样品培养环境依循实验需求调控 6 组环境条件变量，分为对照组、厌氧组、pH 组、碳源组、避光组和低温组。水样分别在 12、24、36、48、60、84、120h 时采集，测定水体中所剩余聚磷及磷酸盐的含量，每次取样均采用平行样品以避免取样时的干扰因素对实验结果产生影响。不同组别环境条件变量设置如表 1 所示。

1.2.2 聚磷在沉积物-上覆水体系中的分解和在沉积物中的转化 按照实验需求，依循不同环境条件设置纯水组、对照组、厌氧组、pH 组、碳源组、灭菌组、避光组、低温组和扰动组，共 9 组。每组分别添加 50 g 混合均匀后的表层沉积物样品 (鲜样，含水率 28.44%) 与定量 (5 mg) 45-polyP 进入瓶中，混合后放置

于 5℃ 环境下稳定 4h，随后沿边缘缓慢加入 200 ml 湖水或纯水（纯水组），采用组培封口膜封口后进入培养实验阶段。培养时间自装瓶起算，在 12、24、36、48、60、72、96h 采集上覆水，检测上覆水中聚磷和 SRP 浓度。上覆水取样结束后，将上覆水倒出，取出沉积物在摇床上震荡混匀后取样，为聚磷在沉积物中的提取做准备。不同组别的环境条件变量设置如表 2 所示。聚磷在沉积物和上覆水中的分解速率比值根据湖水上覆水组和纯水对照组 SRP 的差值计算。

表 1 不同组别聚磷（poly-P）在近自然水体中的分解实验设置条件

Tab.1 Experimental Setup Conditions for Polyphosphate Degradation in Near-Natural Water across Different Groups

组别	温度/℃	光照	变量设置
对照组	25	有	加入聚磷，但不做额外变量改动进行培养
厌氧组	25	有	湖水样品用 N ₂ 充分曝气，装瓶后用 N ₂ 吹扫且闭瓶培养
pH 组	25	有	使用 NaOH 溶液将湖水样品预调至 pH=9 并装瓶培养
碳源组	25	有	向湖水样品中预加入 800 mg/L 乙醇作为碳源并装瓶培养
避光组	25	无	使用铝箔包裹放置于暗处以完全避光培养
低温组	10	有	样品放置在 10℃ 的环境下培养

表 2 不同组别聚磷（poly-P）在沉积物-上覆水体系统中的分解实验条件

Tab.2 Experimental Conditions for Polyphosphate Degradation in the Sediment-Overlying Water System Across Different Groups

组别	温度/℃	光照	变量设置
对照组	25	有	加入聚磷，但不做额外变量改动进行培养
厌氧组	25	有	湖水用 N ₂ 充分曝气，装瓶后用 N ₂ 吹扫且完全闭瓶培养
pH 组	25	有	使用 NaOH 溶液将湖水样品预调至 pH=9 并装瓶培养
碳源组	25	有	向湖水样品中加入 800 mg/L 乙醇作为碳源并装瓶培养
灭菌组	25	有	无菌条件下，样品均灭菌处理，冷却后装瓶且密闭培养
避光组	25	无	使用铝箔包裹以完全避光培养
低温组	10	有	样品放置在 10℃ 的环境下培养
纯水组	25	有	将上覆水改为纯水
扰动组	25	有	培养期间每天上午 8:30-11:30 使用搅拌器以 150 r/min 的速度扰动上覆水以模拟湖水的低速风浪扰动

沉积物的提取：首先，将沉积物与缓冲液混匀。将 4 ml ME 缓冲液（25 mM MOPS, 2.5 mM Na₂EDTA, pH =7.0, 用 HCl/NaOH 调 pH, 经 0.2 μ m 孔径过滤，4℃ 存放）加入到 4 g 沉积物中，利用涡流器涡旋 20 s 使得试剂与样品充分接触。其次，苯酚-水乳液的形成。样品经过 1000 r/min 离心后，加入 3ml 饱和苯酚溶液（饱和苯酚已与 TE 缓冲液平衡，并在 TE 缓冲液层下存放，4℃ 保存，使用前恢复至室温），随后涡流 20 s，并进行样品孵育。将管子先在 45℃ 条件下孵育 10 min，后 0℃ 下孵育 2 min，并借助 1000 r/min 离心以清除管盖上的液体。最后，聚磷在沉积物中的提取。加入 7 ml 三氯甲烷后，涡流 20 s，以允许三氯甲烷提取任何溶解在水相中的苯酚。相位锁定凝胶的确切量不重要。再经过离心（4000 r/min, 10 min）后，将顶部水相定量转移到另一个离心管中，记录提取物的确切体积（约 5ml）^[23]。

向混合均匀的表层沉积物样品中加入 0.1 mg/g 的聚磷，在 240 r/min 的摇床上震荡混合 2h 后装瓶培养。在第 0、1、2、4、7d 取样，冷冻干燥后装入自封袋中待测。通过萃取提取和磷形态分级方式提取沉积物中的磷组分，测定磷组分中 SRP 含量和聚磷含量。

1.3 检测与分析

1.3.1 聚磷 (poly-P) 与溶解性活性磷的测定 聚磷的测定采用 DAPI 荧光染色法^[12,24], 将待测溶液 1:1 加入 pH=8 的 HEPES 缓冲液中摇匀, 1:10 比例加入 100 mM DAPI 溶液, 使得待测液中 DAPI 浓度达到 10 mM 左右, 避光反应 10 min, 在反应前、中、后均进行涡旋混匀。反应结束后立刻以 415 nm 激发波长、550 nm 发射波长进行荧光强度检测以避免荧光猝灭。SRP 的测定使用 1.5 g 抗坏血酸溶于 100ml 钼酸锑溶液中配成显色剂, 随后将 8 ml 通过 0.45 μ m 滤膜过滤后的水样加入 0.32 ml 显色剂, 显色 30 min (15 $^{\circ}$ C) 或 20 min (30 $^{\circ}$ C) 后在紫外分光光度计上 700 nm 处比色。

1.3.2 沉积物中磷形态含量测定 磷形态分级提取的基本原理是使用特定的化学试剂选择性地与沉积物中特定形态的磷结合, 按照其结合的不同顺序进行连续提取, 以获得沉积物中不同形态的磷。磷形态分级提取检测的步骤, 参考 Sun 和 Yang 等人^[25, 26]的磷形态分级提取方法, 调整如下: ①取 50 ml 塑料离心管并编号, 称取约 0.4 g 过筛冻干样品放入离心管中; 配置过饱和的 NaOH 溶液调节 pH。②加入 20 ml pH=7 的 1M NH₄Cl 溶液, 放入 25 $^{\circ}$ C 摇床振荡 2h, 用高速离心机 4000 r/min 离心 10min, 取上清液过滤后测得弱结合态磷(LP)。③加入 20 ml pH=7 的 0.1M Na₂S₂O₄-NaHCO₃ 混合溶液, 放入 25 $^{\circ}$ C 摇床振荡 1h, 用高速离心机 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液过滤后稀释 2 倍并调 pH 为 7, 测定铁结合态磷(Fe-P)中的聚磷。在离心管中加入 20 ml 超纯水, 放入 25 $^{\circ}$ C 摇床振荡 0.5h, 用高速离心机 4000 r/min 离心 10 min, 倒掉上清液。④加入 0.1 M NaOH 溶液 20 ml, 放入 25 $^{\circ}$ C 摇床振荡 16h, 用高速离心机 4000 r/min 离心 10min, 然后过滤, 取上清液过滤后稀释 2 倍并调 pH 为 7, 检测铝结合态磷(Al-P)中的聚磷。在离心管中加入 20 ml 超纯水, 放入 25 $^{\circ}$ C 摇床振荡 0.5h, 用高速离心机 4000 r/min 离心 10 min, 倒掉上清液。⑤在离心管中加入 0.5M HCl 溶液 20ml, 放入 25 $^{\circ}$ C 摇床振荡 16h, 用高速离心机 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液过滤, 调 pH 为 7 后, 直接测钙结合态磷(Ca-P)中的聚磷含量。

由于聚磷水解的周期过短, 聚磷和其水解产物难以在期间向其余形态磷转化, 因此在培养周期结束后不再进行后续残渣态磷的测定。

1.4 数据处理与分析

点位图由 ArcGIS 10.5 绘制; 使用 Excel 2016 对实验数据进行汇总、统计, 数据图的绘制借助软件 Origin 8.0 和 SPSS26.0 完成。

2 结果与讨论

2.1 聚磷在近自然水体中的分解特征

为探讨聚磷 (poly-P) 在沉积物-上覆水体系中的分解转化是否存在上限和边际效应, 在近自然条件下对不同浓度的聚磷在水体中进行了分解实验, 实验结果表明 (图 2), 在湖水初始溶解性聚磷浓度约为 0.06 mg/L 的背景值下, 高浓度聚磷组 (>10 mg/L) 中 SRP 浓度变化趋势远高于低浓度聚磷组 (\leq 10 mg/L)。聚磷在前 36h 内的分解速率随聚磷浓度的升高而增加, 水体中 SRP 浓度的增长速率与聚磷浓度几乎呈正相关 ($R^2=0.995$), 且未发现 SRP 的增长受到明显的限制。48h 后, 高浓度聚磷组 (>10mg/L) 的 SRP 浓度上升速率逐渐减少且趋于固定值, 约 $0.1 \pm 0.01 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1} / \text{d}$, 可近似认为 48h 后聚磷在水中分解产生的磷酸盐和微生物再利用的部分达到平衡, 直至聚磷被完全分解。

不同环境条件下 (图 3), 除低温组 (10 $^{\circ}$ C) 外, 其他 5 组的聚磷 (poly-P) 浓度降低速率较为接近, 且约在 60h 时几乎降至零点, 这表明温度对聚磷的降解有一定影响。相反, 不同组中的 SRP 呈不同程度的波动趋势。pH 组、低温组与对照组的变化趋势相似, 水中 SRP 浓度在前 12h 突增后缓慢升高趋于稳定。pH 组的 SRP 浓度总体上与对照组差异不大; 低温组的 SRP 增长速率约为对照组的 50%。而厌氧组、碳源

组和避光组变化趋势并不稳定。厌氧组的 SRP 浓度在前 24h 内迅速增长，随后开始下降，且在整体培养周期内呈现出一定波动；碳源组的 SRP 浓度在培养初期急剧上升，并在约 60h 达到峰值，之后迅速下降至较低水平；避光组在培养初期 SRP 浓度先升后降，但在约 84h 后再次快速增长。

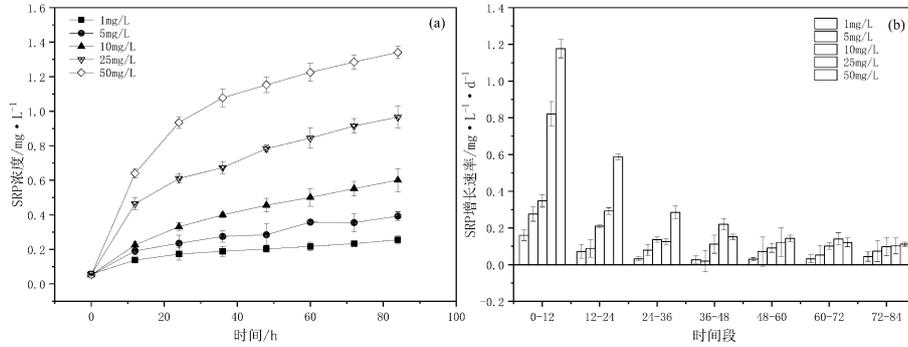


图 2 不同浓度聚磷 (poly-P) 在近自然水体中的分解趋势

Fig.2 Degradation Trends of Polyphosphate at Different Concentrations in Near-Natural Water

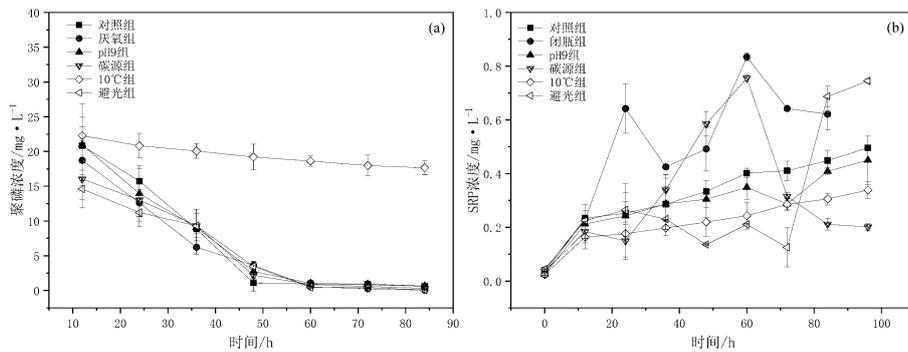


图 3 不同环境条件下聚磷 (poly-P) 在近自然水体中分解趋势

Fig.3 Degradation Trends of Polyphosphate Under Different Environmental Conditions in Near-Natural Water

不同环境条件下的聚磷 (poly-P) 在近自然水体中分解趋势结果表明，厌氧条件下，水中厌氧微生物活性增加，促进了聚磷的分解，从而造成 SRP 浓度短期内迅速上升。随后，厌氧微生物种群发展吸收部分 SRP，浓度暂时下降。随着聚磷的持续分解，SRP 浓度逐步回升在 60h 时达到最高值，此后 SRP 的外部来源消失，浓度开始下降且逐步趋于稳定。水体中碳源的补给显著促进微生物快速繁殖与种群扩展，加速聚磷的水解反应。在 60h 时，水中聚磷几乎消耗殆尽，但剩余的碳源仍供给能量助推微生物种群增长并持续吸收利用 SRP，浓度随之下降。而低温条件可同步减慢了聚磷的分解速率与 SRP 的增长速率，尤其 SRP 增长速率较自然条件下(对照组)的下降幅度远低于聚磷水解速率，是由于低温环境下低生物活性限制 SRP 利用速率以及微生物死亡释放 SRP 共同作用所致。综上，水体中聚磷浓度的降低速率相较于 SRP 的增长速率过高是因为以下原因：(1) 水中存在的内切多聚磷酸盐水解酶 (PPN) 等酶将长链聚磷剪切为短链聚磷，针对 45 链长的聚磷水解，PPN 只需要 2-3 次水解就能够将长链聚磷水解为 10 链长以下的短链聚磷，10 链长以下的短链聚磷通常无法被 DAPI 染色法识别，导致水体中聚磷减少的真实速率比测定值高^[27, 28]；(2) SRP 因其高生物可利用性，在水中会迅速被微生物吸收，参与磷的再循环中^[29]。(3) 聚磷在加入水中后迅速被悬浮颗粒物捕获，以颗粒态磷形式存在，因此，聚磷浓度的实际下降速率远小于其水解速率^[30]。

2.2 聚磷在沉积物中的迁移和转化特征

聚磷 (poly-P) 在加入沉积物-水体系后, 沉积物提取的上清液聚磷浓度变化如图所示。萃取提取法所提取的沉积物初始聚磷浓度约为 0.0014 mg/g, 除灭菌组外, 其他各环境变量组的聚磷浓度较对照组均变化不大; 对沉积物中间隙水检测的结果相似。Fang 等的研究表明^[31], 聚磷能与沉积物中的腐殖酸通过氢键形成一种结合体。本实验结果显示, 聚磷在间隙水中未检出且培养周期内无明显波动。反之, 对沉积物进行萃取提取一定程度上可提取出溶解态的腐殖酸, 但在对应的水相中同样并未检测到聚磷浓度的变化。由此推断, 聚磷在沉积物中的主要形态方式并不以游离的聚磷通过氢键与腐殖酸结合的方式而存在, 而是以结合态与固相物耦合为主。

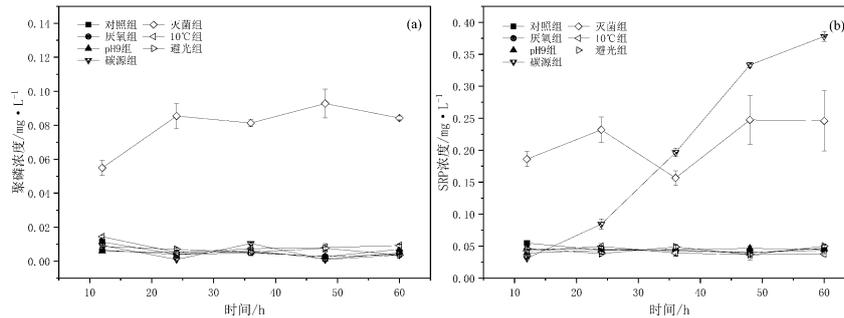


图4 沉积物和间隙水中溶解性聚磷和 SRP 的提取结果

Fig.4 Extraction Results of Dissolved Polyphosphate and SRP in Sediment and Pore Water

沉积物加入聚磷并震荡 2h 混匀后, 培养第 1、2、4、7 天后进行磷形态分级提取的结果如图所示, 其中 LP 和 Ca-P 中的聚磷含量都接近 0, 几乎无法检出, Fe-P 和 Al-P 组分中的聚磷浓度约为 0.0125mg/g。7 天内沉积物 LP、Fe-P 均无较大变化, Ca-P 在整个培养过程中均未检出。相反, 加入聚磷后, 沉积物 Al-P 中提取出聚磷的含量显著提升, 且在 7 天内下降了约 90%。通过对沉积物 AL-P 中聚磷的含量计算可知, Al-P 中聚磷的含量达到了约 0.32 mg, 占添加聚磷总量的 80%, 除去震荡混合期间分解量, 说明聚磷在沉积物中主要以 Al-P 的形态存在, 且维持该形态持续分解, 并在 7 天内减少约 80% 的聚磷浓度。根据 Wan^[22]等人的研究结果显示, 聚磷能够和氧化铝矿物形成双齿内球络合物, 这可能是其主要存在于 Al-P 组分中的原因。

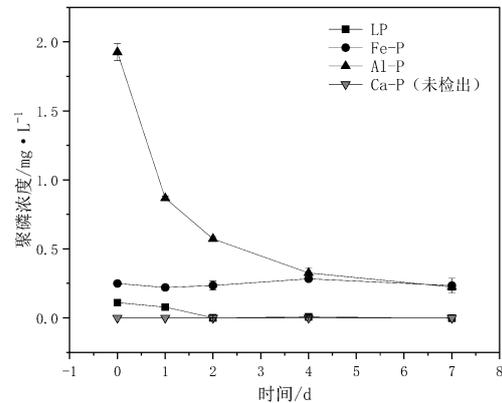


图5 沉积物磷形态提取聚磷含量检测结果

Fig.5 Polyphosphate Content in Different Phosphorus Fractions of Sediment Extraction Results

2.3 聚磷在沉积物-水体系中的分解机制

在整个培养周期内, 聚磷的动态变化与溶解性反应磷 (SRP) 的释放呈现出不同环境条件下的特征性趋势。聚磷加入至各培养组的沉积物-水体系后, 约 48h 内便停止释放至上覆水, SRP 浓度先升后降, 渐而趋于稳定, 并达到峰值。环境条件间的差异对 SRP 具有显著影响。灭菌组表现出明显的抑制效应, 所添加的聚磷在进入沉积物后无法检测到, SRP 浓度几乎未发生变化; 相比之下, 碳源的添加显著促进 SRP 的释放, 使其在水中持续积累, 且未达到上限; 而在扰动组中, 聚磷的减少速率和 SRP 的增长速率均显著加快, SRP 释放的峰值比对照组高出约 30% 以上。除此之外, 不同培养组的 SRP 峰值出现时间也有所不

同。其中，纯水组（84h）>闭光组（60h）>厌氧组（36h）。因此，外部扰动、碳源添加及培养条件均对聚磷及 SRP 的释放具有显著影响，其中扰动和碳源添加显著加速了 SRP 的释放过程。

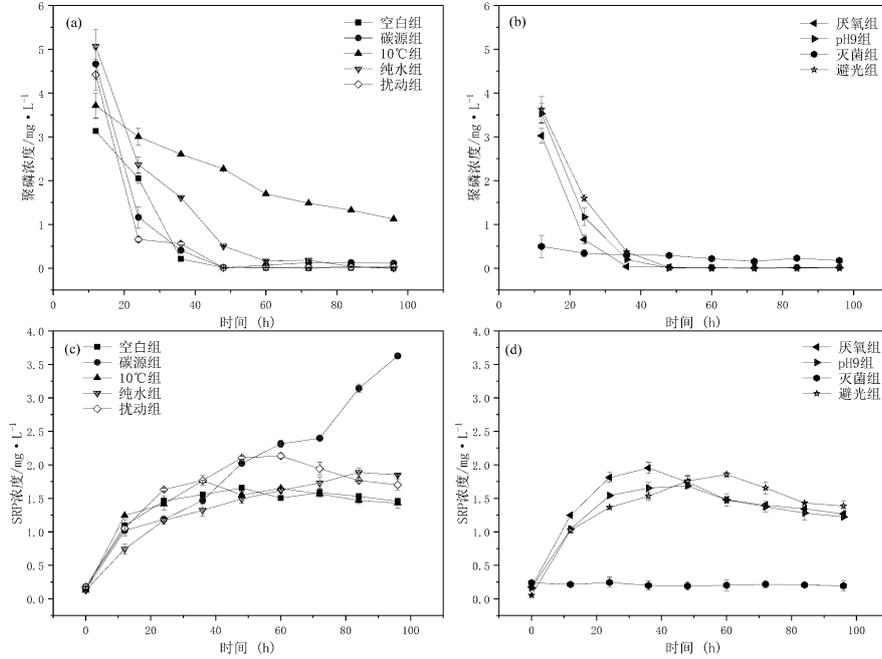


图 6 不同环境条件下聚磷在泥-水界面的分解特征

Fig.6 Degradation Characteristics of Polyphosphate at the Sediment-Water Interface Under Different Environmental Conditions

对样品进行灭菌处理后的培养过程中，整个周期内聚磷（poly-P）浓度和其水解产物 SRP 浓度均无变化，证明聚磷在微生物作用下水解和酶促反应的水解是聚磷在自然水体中的主要分解方式。由表 3 可知，聚磷在沉积物-水体系中的分解主要受溶解氧、温度、碳源和上覆水扰动调控，相较于对照组，厌氧组与碳源组的 t_1 均降低，分别为约 40%和 25%；相反，低温组升高 7 倍以上。低温、低溶解氧浓度和碳源的补给能够改变水中微生物和酶的活性，进而影响聚磷的水解速率。而扰动对聚磷分解速率的影响主要在于增加了沉积物和上覆水之间的物质交换方式，使得聚磷能够更充分的与对应的微生物和酶反应。此外，避光状态下浮游植物等微生物活性降低，导致了避光组的聚磷水解速度也相对降低^[32]。

表 3 聚磷在沉积物-水体系中的分解过程中上覆水聚磷浓度浓度的拟合结果

Tab.3 Fitting Results of Polyphosphate Concentration in Overlying Water During Degradation in the Sediment-Water System

$y = A_1 e^{-\frac{x}{t_1}} + y_0$	A_1	t_1	y_0	R^2
对照组	12.330 ± 3.190	8.838 ± 1.526	-0.001 ± 0.014	0.968
厌氧组	31.654 ± 5.709	5.142 ± 0.216	0.006 ± 0.003	0.962
pH=9 组	18.535 ± 6.552	8.813 ± 0.740	-0.011 ± 0.014	0.907
碳源组	65.058 ± 81.728	6.790 ± 1.643	0.084 ± 0.035	0.946
灭菌组	0.554 ± 0.334	26.744 ± 14.901	0.161 ± 0.039	0.814
低温组（10℃）	4.547 ± 0.150	71.165 ± 30.941	-0.059 ± 0.723	0.997
避光组	20.407 ± 9.027	8.821 ± 1.051	0.004 ± 0.016	0.933
纯水组	30.758 ± 12.587	11.942 ± 1.63	0.012 ± 0.061	0.969
扰动组	25.016 ± 19.833	6.860 ± 1.769	0.019 ± 0.006	0.677

根据对体系中 SRP 浓度的拟合可知,除了 pH=9 组和避光组外,其余各组的 SRP 浓度上升速率变化幅度较大。培养周期结束时,厌氧组中的上覆水接近厌氧状态,比对照组更早达到厌氧状态,进而 SRP 浓度更早达到峰值与平衡。培养过程中加入碳源虽未能使聚磷的浓度下降速率有明显提升,却使得 SRP 的浓度在培养过程中持续上升,远超其他组的峰值浓度。扰动组不仅提高了聚磷的分解速率,也提升了沉积物中的 SRP 向上覆水释放的程度,因而导致上覆水中的 SRP 浓度得到了显著的上升^[33,34]。低温和纯水上覆虽会降低聚磷的分解速率,但是由于水中微生物活动相对减弱,因此整体的 SRP 浓度提升速率相较于对照组仍有所提高。

表 4 聚磷在沉积物-水体系中的分解过程中上覆水 SRP 浓度的拟合结果

Tab.4 Fitting Results of Soluble Reactive Phosphorus (SRP) Concentration in Overlying Water During Polyphosphate Degradation in the Sediment-Water System

$y=a-b*\ln(x+c)$	a	b	c	R^2
对照	0.297 ± 0.141	-0.352 ± 0.037	-0.493 ± 0.240	0.99995
厌氧	-0.765 ± 0.399	-0.764 ± 0.13	1.909 ± 0.987	0.99997
pH=9	0.176 ± 0.518	-0.409 ± 0.152	-0.258 ± 1.021	0.99639
碳源	-12.919 ± 17.684	-3.222 ± 3.298	55.212 ± 76.788	0.99886
灭菌	---	---	---	---
10°C	-0.328 ± 0.143	-0.525 ± 0.041	1.064 ± 0.443	0.99999
避光	0.624 ± 0.190	-0.257 ± 0.072	-0.890 ± 0.149	0.99822
纯水	-0.864 ± 0.346	-0.600 ± 0.089	3.620 ± 1.617	0.99915
扰动	-0.867 ± 1.348	-0.721 ± 0.346	2.57 ± 4.501	0.99918

2.4 聚磷在沉积物-水体系中分解对 SRP 的贡献

为实验 2 的各组设置相同环境变量条件但不额外添加聚磷 (poly-P) 的空白对照组,并在相同时间取样检测 SRP,取各实验组和对应空白组 SRP 浓度的差值得到 SRP 在培养周期内各阶段的净增长浓度。由图 7a 可知,在实验初期 (0-24h),各处理组的 SRP 净增长浓度均有较小幅度的上升,变化幅度较为相似,均在 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右。从 24h 到 48h,各组表现出不同的变化趋势。碳源组 (倒三角符号) 在 48h 后 SRP 浓度显著增加,至 60h 时达到最大值约 $3.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。相比之下,其他组 (如对照组、厌氧组、pH9 组、10°C 组、避光组、扰动组) 的 SRP 增长在 48h 后逐渐趋于平稳,SRP 浓度维持在 $1.5\text{-}2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间。在 60h 之后,除了碳源组持续保持较高的 SRP 增长外,其他组的 SRP 浓度略有下降,表现出 SRP 分解与吸收的动态平衡,最终在 96h 左右趋于稳定。

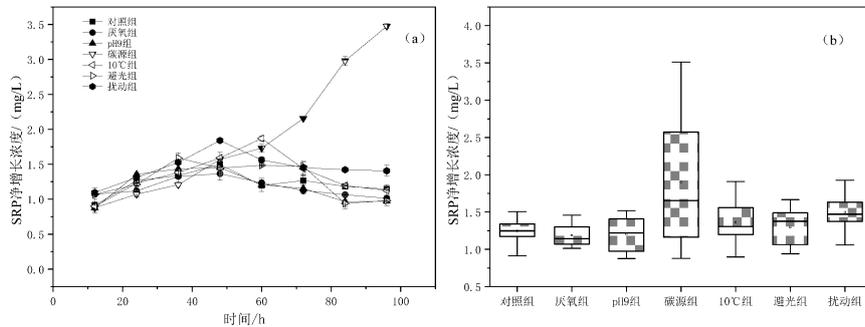


图 7 试验周期内 SRP 净增长浓度结果

Fig.7 Net Increase in Soluble Reactive Phosphorus (SRP) Concentration Over the Experimental Period

在聚磷 (poly-P) 培养实验的过程中, 对照组的溶解性反应磷 (SRP) 净增长浓度维持在约 $1.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 且波动范围较小, 反映出 SRP 在该组中处于较为稳定的状态。相比之下, 不同处理组与对照组的 SRP 浓度表现出明显的差异。避光组和 10°C 组的 SRP 净增长与对照组相比相对略高, 但是其波动范围相对较大。避光组的中位数接近 $1.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 表明光照与温度条件的变化对 SRP 释放产生了一定的影响, 在整个周期内呈现更明显的波动。扰动组的 SRP 浓度与对照组相比较, 约为 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 尽管扰动加快了 poly-P 的释放, 但其最终 SRP 浓度的变化幅度并未显著高于对照组, 说明在实验周期内, 扰动效应对 SRP 浓度的影响逐渐趋于平缓。最为显著的是碳源组, 该组的 SRP 净增长浓度远高于对照组, 浓度峰值约为对照组的 2 倍以上, 且最高值接近 $4.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。这表明碳源的添加大幅度促进了 SRP 的释放, 导致显著的积累。此外, 碳源组中存在异常值, 可能表明该环境条件下某些特定因素 (如微生物活性增强) 加剧了 poly-P 的分解和 SRP 的释放。

对培养实验后 48h 各组 SRP 浓度的单因素方差分析结果如下:

表 4 实验后 48h 各组 SRP 浓度的单因素方差分析结果

Tab.4 The one-way ANOVA results for SRP concentrations of each group in the last 48 hours of the experiment.

(I) group	(J) group	平均差异 (I-J)	标准错误	显著性	95% 信赖区间	
					下限	上限
LSD	厌氧组	0.061	0.131	.642	-0.198	0.320
	pH9组	0.040	0.131	.757	-0.219	0.300
	碳源组	-0.657	0.131	.000*	-0.916	-0.397
	对照组	1.220*	0.131	.000*	0.960	1.480
	10°C 组	-0.118	0.131	.367	-0.378	0.140
	避光组	-0.050	0.131	.702	-0.310	0.209
	扰动组	-0.311*	0.135	.024*	-0.580	-0.042

分析结果显示, 碳源的添加、灭菌处理和扰动对聚磷分解导致的 SRP 浓度的净增长具有显著贡献, 其余组别的环境变量变化不具有显著贡献。

综上所述, 聚磷从泥水界面释放后 12h 即可对上覆水提供约 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SRP 浓度净增长, 除碳源组外, 各组聚磷的水解短期内对上覆水 SRP 浓度的贡献约为 $1.0\text{-}1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 碳源的添加对 SRP 的净浓度增长起到了显著的作用, 能够达到 $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的峰值, 这表明聚磷在短期内能够显著增加水体的富营养化负荷, 在藻类死亡等聚磷和碳源共同释放的场景中更需要额外关注其造成的磷负荷对水体富营养化的影响。

3 结论

(1) 溶解性聚磷在自然水体中的水解过程中, 前 48h 内聚磷的分解速率随浓度增加而增加, SRP 的生成速率与聚磷的初始浓度呈正相关。在此期间, SRP 释放未受到显著限制。48h 后, 高浓度聚磷组的 SRP 生成速率逐渐下降并趋于稳定, 可达到约 $0.11 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}$ 。除低温外, 环境变量对聚磷在水中的降解速率影响均较小。聚磷的水解过程在不同环境条件下表现出显著差异性特征: 可利用碳源显著促进了聚磷分解和 SRP 的短期快速释放, 厌氧条件下 SRP 浓度表现出显著的波动性, 而低温和避光条件则减缓了 SRP 的增长。整体来看, 聚磷在自然水体的分解及其产生的 SRP 受环境条件的显著影响, 特别是在溶解氧、碳源及温度的调控下, 表现出不同的降解动力学特性。

(2) 溶解性聚磷在进入沉积物后微量存在于间隙水中, 主要以强结合态结合在固相中。沉积物磷形态分级提取的结果表明溶解态聚磷主要存在于 Al-P 组分中, 且在 7 天内持续水解直至达到正常浓度水平,

其余磷形态组分中并未检测到额外聚磷的存在。

(3) 聚磷在沉积物-水体系中的分解过程主要受溶解氧、温度、碳源和扰动等因素调控, 其水解过程表现为微生物和酶驱动的生物化学反应。在实验周期内, SRP 的释放呈现显著的时间依赖性, 且不同环境条件下 SRP 的释放速率和最终浓度差异显著。灭菌处理后聚磷的分解受到抑制, 而碳源添加和水体扰动则显著加速 SRP 的释放过程, 额外的碳源和溶解性聚磷共同作用可导致短期内突发性的水体恶化和底质极度缺氧劣质化。低温和溶解氧不足降低了微生物活性, 延缓聚磷的分解, 但其对 SRP 浓度的最终影响相对有限。

(4) 溶解性聚磷具有周转快、产物生物利用率高的特点, 其分解动态与沉积物上覆水中的界面交换密切相关, 短期内对水体 SRP 升高影响大, 底泥扰动和可利用碳源显著加速了这一进程。聚磷在扰动和可利用碳源作用下的快速水解是夏秋季节藻细胞指数增殖生长的活性磷短期供给重要来源。

4 参考文献

- [1] Martin, P., et al. Accumulation and enhanced cycling of polyphosphate by Sargasso Sea plankton in response to low phosphorus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(22): 8089-8094.
- [2] Zhang, F., et al. Phosphorus sequestration in the form of polyphosphate by microbial symbionts in marine sponges. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(14): 4381-4386.
- [3] Shi, T., et al. Polyphosphates: beyond the Volutin. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2018, 34(02): 153-161. DOI:10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.02.05. [石廷玉,王园媛,董兴高.多聚磷酸盐:不仅是异染粒.中国生物化学与分子生物学报,2018,34(02):153-161.]
- [4] Diaz, J., et al. Marine polyphosphate: A key player in geologic phosphorus sequestration. *Science*, 2008, 320(5876): 652-655.
- [5] Diaz, J. M., et al. Potential role of inorganic polyphosphate in the cycling of phosphorus within the hypoxic water column of Effingham Inlet, British Columbia. *Global Biogeochemical Cycles*, 2012, 26: 13.
- [6] Hupfer, M., et al. Origin and diagenesis of polyphosphate in lake sediments: A ³¹P-NMR study. *Limnology and Oceanography*, 2004, 49(1): 1-10.
- [7] Martin, P., et al. Accumulation and enhanced cycling of polyphosphate by Sargasso Sea plankton in response to low phosphorus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(22): 8089-8094.
- [8] Diaz, J. M., et al. Polyphosphate dynamics at Station ALOHA, North Pacific subtropical gyre. *Limnology and Oceanography*, 2016, 61(1): 227-239.
- [9] Carman, R., et al. Distribution of organic and inorganic phosphorus compounds in marine and lacustrine sediments: a ³¹P NMR study. *Chemical Geology*, 2000, 163(1-4): 101-114.
- [10] Shinohara, R., et al. Biogenic Phosphorus Compounds in Sediment and Suspended Particles in a Shallow Eutrophic Lake: A ³¹P-Nuclear Magnetic Resonance (³¹P NMR) Study. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(19): 10572-10578.
- [11] Rao, N. N., et al. Inorganic Polyphosphate: Essential for Growth and Survival. *Annual Review of Biochemistry*, 2009, 78: 605-647.
- [12] Diaz, J. M., E. D. Ingall. Fluorometric Quantification of Natural Inorganic Polyphosphate. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(12): 4665-4671.
- [13] Ebuele, V. O., et al. Phosphorus speciation by ³¹P NMR spectroscopy in bracken (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) and bluebell (*Hyacinthoides non-scripta* (L.) Chouard ex Rothm.) dominated semi-natural upland soil. *Science of the Total Environment*, 2016, 566: 1318-1328.
- [14] Isabela C. Torres, Benjamin L. Turner, K. Ramesh Reddy. The Chemical Nature of Phosphorus in Subtropical Lake Sediments. *J.*

- Lake Sci, 2014, 20 (4) : 437 - 457 .
- [15] Turner, B. L., et al. Response to Comment on The Chemical Nature of Phosphorus in Subtropical Lake Sediments, by Kenney et al. *Aquatic Geochemistry*, 2015, 21(1): 7-9.
- [16] Sannigrahi, P., E. Ingall. Polyphosphates as a source of enhanced P fluxes in marine sediments overlain by anoxic waters: Evidence from ³¹P NMR. *Geochemical Transactions*, 2005, 6(3): 52-59.
- [17] Hupfer, M., et al. Origin and diagenesis of polyphosphate in lake sediments: A ³¹P-NMR study. *Limnology and Oceanography*, 2004, 49(1): 1-10.
- [18] Ingall, E., et al. Sediment carbon, nitrogen and phosphorus cycling in an anoxic fjord, Effingham Inlet, British Columbia. *American Journal of Science*, 2005, 305(3): 240-258.
- [19] QI C., et al. Deposition characteristics of suspended solids and the response of dissolved nutrients in spring in the western lakeside of Taihu Lake. *Environmental Science*, 2017, 38(1):95-103. [祁闯,王国祥,吴馨婷,等.太湖湖滨带春季悬浮物沉降特征与水体营养盐响应.环境科学,2017,38(1):95-103.]
- [20] Wang, M., et al. Metabolic mechanism and function of cyanobacterial polyphosphate in lakes. *Journal of Lake Sciences*, 2023, 03: 780-794.[王梦梦,龚正文,陈成,等.湖泊蓝藻多聚磷酸盐代谢机制及功能.湖泊科学,2023,35(03):780-794.]
- [21] Huang, R., et al. Phosphatase-Mediated Hydrolysis of Linear Polyphosphates. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(3): 1183-1190.
- [22] Wan, B., et al. Polyphosphate Adsorption and Hydrolysis on Aluminum Oxides. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(16): 9542-9552.
- [23] Mussigzufika, M., et al. ISOLATION AND ANALYSIS OF INTACT POLYPHOSPHATE CHAINS FROM ACTIVATED SLUDGES ASSOCIATED WITH BIOLOGICAL PHOSPHATE REMOVAL. *Water Research*, 1994, 28(8): 1725-1733.
- [24] Kulakova, A. N., et al. Direct Quantification of Inorganic Polyphosphate in Microbial Cells Using 4'-6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI). *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(18): 7799-7803.
- [25] Sun, C. Z., et al. Internal nitrogen and phosphorus loading in a seasonally stratified reservoir: Implications for eutrophication management of deep-water ecosystems. *Journal of Environmental Management*, 2022, 319.
- [26] Yang, C. H., et al. Combining dredging with modified zeolite thin-layer capping to control nitrogen release from eutrophic lake sediment. *Journal of Environmental Management*, 2024, 353.
- [27] Ishige, K., et al. Polyphosphate kinase (PPK2), a potent, polyphosphate-driven generator of GTP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(26): 16684-16688.
- [28] L. P. Lichko, T. V. Kulakovskaya, I. S. Kulaev. Inorganic polyphosphates and exopolyphosphatases in different cell compartments of *Saccharomyces cerevisiae* . *J. Lake Sci*, 2006, 71 (11) : 1171 - 1175 .
- [29] Shi X., et al. Effect of temperature on the translocation of exogenous ³²P in water column, *Microcystis aeruginosa* and sediments. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003,(11):1967-1970. [史小丽,王凤平,蒋丽娟,等.温度对外源性 ³²P 在水、铜绿微囊藻和底泥中迁移的影响.应用生态学报,2003,(11):1967-1970.]
- [30] Read, E. K., et al. Phosphorus speciation in a eutrophic lake by ³¹P NMR spectroscopy. *Water Research*, 2014, 62: 229-240.
- [31] Fang, W., et al. Quantitative evaluation of noncovalent interactions between polyphosphate and dissolved humic acids in aqueous conditions. *Environ Pollut*, 2015, 207: 123-129.
- [32] Fang T., et al. Effect of irradiance and phosphate on growth of nanophytoplankton and picophytoplankton. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 09: 2783-2790. [方涛,李道季,余立华,等.光照和营养盐磷对微型及微微型浮游植物生长的影响.生态学报,2006,(09):2783-2790.]

- [33] Sondergaard, M., et al. PHOSPHORUS RELEASE FROM RESUSPENDED SEDIMENT IN THE SHALLOW AND WIND-EXPOSED LAKE ARRESO, DENMARK. *Hydrobiologia*, 1992, 228(1): 91-99.
- [34] Yang, Z., et al. A Simulated Experimental Study on the Release of Phosphorus from Lake Sediments by Disturbance. *Environmental Science & Technology*, 2022, 45(S1): 104-110. DOI:10.19672/j.cnki.1003-6504.2378.21.338. [杨智婷,冯民权.扰动对湖泊沉积物磷释放的模拟试验研究.环境科学与技术,2022,45(S1):104-110]