用 INT-ETS 活性表征污泥生物活性的可行性研究

谭学军[1], 唐 利[2], 何小娟[2]

(1.上海市政工程设计研究总院, 上海 200092; 2.同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092)

摘 要 通过考察有机物生物降解、硝化和反硝化过程中 INT-ETS 活性的变化规律, 研究了 INT-ETS 活性表征污泥生物活性的可行性。结果表明, INT-ETS 活性可以有效揭示有机物生物降解、硝化和反硝化反应进程, 同时对系统受到的冲击负荷和硝化过程中碱度的变化有灵敏感应, 说明用 INT-ETS 活性表征污泥的生物活性是可行的。

关键词 有机物生物降解 硝化 反硝化 INT-ETS 活性 活性污泥

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 1009-0177(2008)03-0039-05

Evaluation of Biological Activity of Activated Sludge by INT-ETS Activity

TAN Xue-jun[1], TANG Li[2], HE Xiao-juan[2]

(1.Shanghai Municipal Engineering Design General Institute, Shanghai 200092, China;

2.College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract The changing course of INT-ETS activity during organic matter biodegradation, nitrification and denitrification was studied to evaluate the feasibility that INT-ETS activity assessed biological activity of activated sludge. The experimental results showed that INT-ETS activity could reflect the reaction course of organic matter biodegradation, nitrification and denitrification, and the change of loading and alkalinity. Therefore, INT-ETS activity could be used as a parameter to evaluate the biological activity of activated sludge.

Key words organic matter biodegradation nitrification denitrification INT-ETS activity activated sludge

在污水生物处理过程中, 有机底物的生物氧化是通过微生物的一系列生化反应完成的, 其中有机物质的脱氢(电子)是生物氧化分解的关键步骤。在微生物的呼吸过程中, 脱掉的电子会通过一系列电子载体最终转移到天然的最终电子受体 (O_2、NO_3^-、SO_4^{2-}和 CO_3^{2-}等), 从而实现有机污染物的无机化, 这些按电子亲和力递增顺序排列的电子载体构成了电子传递体系(Electron Transport System, 简称 ETS)[1,2]。活性污泥的 ETS 活性指的是污泥微生物呼吸链上电子的传递速率, 其实质是通过测定微生物的呼吸活性来间接指示活性污泥的生物活性。污泥 ETS 活性的测定过程是, 首先向样品中加入人工电子受体(氧化还原电位低于天然最终电子受体), 使其从微生物呼吸链上接受电子而还原, 并发生颜色的变化, 然后通过测定还原产物的光密度来定量污泥的 ETS 活性[3-5]。在污泥 ETS 活性检测中, 碘硝基四氮唑[2-(p-iodophenyl)-3-(p-nitrophenyl)-5-phenyl-tetrazolium Chloride, 简称 INT]是近年来颇受关注的人工电子受体, 其氧化还原电位较低(+90 mV), 实验可在有氧条件下进行, 适合于测定好氧、厌氧和脱氮污泥的生物活性。处于氧化态的 INT 是溶于水的浅黄色结晶粉末, 还原后会在细胞内形成不溶于水的红紫色晶体—INTF (Iodonitro-tetrazolium Formazan)。由 INT 检测出的 ETS 活性被称为 INT-ETS 活性[6-9]。

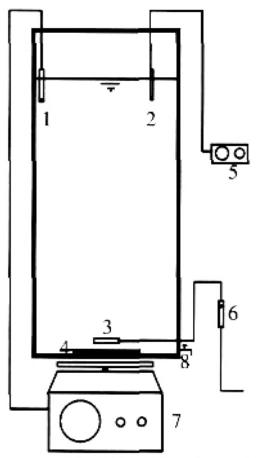
有机物的生物降解、氨氮的硝化和硝态氮的反硝化是污水生物处理过程中最重要的 3 类反应, 氧化有机物的微生物、硝化细菌和反硝化细菌是不同营养类型的微生物, 硝化细菌属化能自养菌, 其余两者均属化能异养菌[10]。这 3 类反应的完成都伴随着电子的传递, 其中有机物氧化的电子供体为有机物, 电子受体为 O_2; 硝化过程的电子供体为 NH_3或 NO_2^-, 电子受体为 O_2; 反硝化过程的电子供体为有机物, 电子受体为NO_3^-或 NO_2^-[11]。基于有机物生物降解、硝化和反硝化过程的这种电子传递机理, 本文通过考察有机物氧化、硝化和反硝化过程中的 INT-ETS 活性的变化规律, 系统研究 INT-ETS 活性表征污泥生物活性的可行性, 此类研究目前国内外尚无报道。

[收稿日期] 2008-01-29
[作者简介] 谭学军(1976-), 男, 博士后, 研究方向为水污染控制。
电话: 13621891887;E-mail: frankytan@163.com。

1　材料与方法

1.1　实验装置

实验装置如图 1 所示。该装置为圆柱形，由有机玻璃制成，总有效容积 5 L。反应器内装有微孔曝气器，采用鼓风曝气方式，以转子流量计控制曝气量；反应器底部设有排泥口，用以排空剩余污泥；反应器下面置有磁力搅拌器，用以保持非曝气状态下的泥水混合及控制系统的运行温度(25±1)℃；反应器中配置 pH 传感器，用以在线检测反应过程中 pH 值的变化。



1. 温度传感器；2. pH传感器；3. 微孔曝气器；4. 转子；5. 酸度计；6. 转子流量计；7. 磁力搅拌器；8. 排泥口

图 1　实验装置图

Fig.1　Schematic diagram of reactor

1.2　分析方法

1.2.1　INT-ETS 活性

向 10 mL 的离心管中依次加入 0.3 mL 的污泥混合液、1.5 mL 的 Tris-HCl 缓冲溶液和 1 mL 的 0.2%INT 溶液。迅速将制备完成的样品放在(37±1)℃的水浴振荡器内，暗处振荡培养 30 min，然后加 1 mL 的 37%甲醛终止酶反应。将该样品在 4 000 r/min 下离心 5 min，轻轻弃去上清液，加入 5 mL 甲醇，混合搅拌均匀，继续在(37±1)℃下暗处振荡萃取 10 min。在 4 000 r/min 下再离心 5 min，并在分光光度计的 485 nm 处读取萃取液的吸光度，经离心的沉淀污泥在(105±1)℃下烘干 1 h 后测干重。INT-ETS 活性的计算公式如下：

$$U^I=\frac{D_{485}V}{K_I Wt} \tag{1}$$

式中：U^I 为 INT-ETS 活性($mg\ INTF\cdot g^{-1}TSS\cdot h^{-1}$)；$D_{485}$ 为波长 485 nm 处的上清液吸光度；V 为萃取剂体积 (mL)；K_I 为标准曲线斜率；W 为污泥干重(g)；t 为培养时间(h)。

1.2.2　其它常规分析指标

COD 采用 5B-1 型 COD 快速测定仪测定；NO_3^--N 采用麝香草酚分光光度法；NO_2^--N 采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法；NH_4^+-N 采用纳氏试剂分光光度法；MLSS 采用滤纸重量法；利用 HANNA pH 211 实验室台式酸度计在线检测 pH 值。

1.3　实验方案

1.3.1　有机物降解实验

实验污泥接种于实验室运行的活性污泥系统，该系统具有稳定的去除有机物和脱氮功能，每次接种污泥量为 1 L。在实验过程中，将取出的活性污泥置入图 1 所示的实验装置中先曝气 1 h，以保证其有机底物完全耗尽，氨氮完全硝化。在实验装置中加入 4 L 人工配制的只含碳源(葡萄糖)、不含氮磷营养物质的实验用水后，先开动磁力搅拌器搅拌 30 min，确保污泥中含有的硝酸盐氮或亚硝酸盐氮能够充分进行反硝化。搅拌结束后，启动曝气系统，同时取样测定污泥的初始 INT-ETS 活性。在此后的曝气过程中，每 10 min 测定一次 INT-ETS 活性，并同时读取系统的 pH 值。

1.3.2　硝化实验

硝化阶段实验污泥源、污泥量和实验装置均与有机物质降解实验相同。实验开始之前，剩余活性污泥首先在实验装置中曝气 1 h，以确保其中含有的有机底物消耗完全。随后实验装置中加入的底物只含有氨氮和维持硝化反应所必需的碱度，体积为 4 L。曝气系统启动后，立即取样测定初始的 INT-ETS 活性。在此后的时间内，每隔 10 min 读取一次 pH 值，而 INT-ETS 活性的取样时间间隔视实验过程长短而定。

1.3.3　反硝化实验

反硝化阶段实验污泥源、污泥量和实验装置均与上述两个实验相同。实验开始之前，首先将剩余活性污泥在实验装置中曝气 1 h，保证其中含有的氨氮硝化完全。该实验阶段只向实验装置内加入含有硝酸盐氮的实验用水，体积为 4 L。随后启动反应器底部的磁力搅拌器，并测定处于反硝化阶段的初始 INT-ETS 活性。此后，每隔 10 min 进行一次 INT-ETS 活性的检测。

2　结果与讨论

2.1　有机物降解过程中的 INT-ETS 活性变化

2.1.1 一次性投加有机底物

在实验中,向反应器中只投加一次有机底物(葡萄糖)和碳酸氢钠。反应器的初始 COD_{Cr} 浓度为 1 000 mg/L 左右,污泥浓度为 5 000 mg/L 左右。图 2 为反应器内 COD 浓度和 INT-ETS 活性在反应过程中随曝气时间的变化。从图 2 可见,在有机物质降解过程结束之前 (0~70 min),INT-ETS 活性的变化趋势是随着 COD 的不断去除而逐渐降低;当有机物质降解过程接近完毕时 (约 80 min),INT-ETS 活性迅速降低到低活性阶段;当溶液中剩下难降解有机物质时,COD 随时间的变化已经非常微弱,此时 INT-ETS 的变化也非常小,基本保持平稳。结果表明,INT-ETS 活性与有机物质的生物降解过程之间表现出较好的相关关系,即可以通过检测系统内污泥 INT-ETS 活性的变化来间接了解体系内的 COD 降解情况。

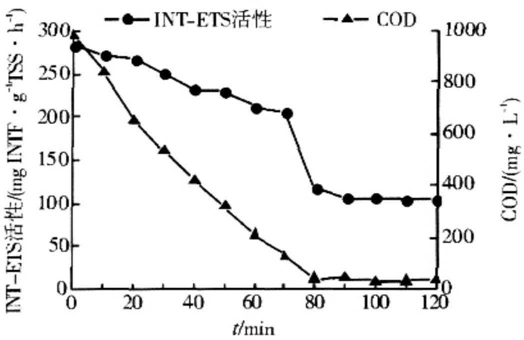


图 2 INT-ETS 活性与 COD 随时间的变化

Fig.2 Variation of INT-ETS activity and COD versus reaction time

2.1.2 间歇性投加有机底物

实验在不同的曝气阶段共间歇投加了 3 次有机底物(葡萄糖),其中第一次是先将其溶解在 4 L 水溶液中,然后再投入反应器与活性污泥混合,其后的 2 次均是根据事先计算好的有机物浓度,直接向反应器内投加有机底物。间歇投加有机底物实验中,INT-ETS 活性与 COD 随时间的变化规律见图 3。

由图 3 可见,INT-ETS 活性对系统受到的有机负荷冲击有非常灵敏的反映,每次在系统中突然加入有机底物,INT-ETS 活性均会瞬时提高,因此,INT-ETS 活性能够及时地指示出反应器内有机物浓度的增加对系统污泥活性带来的促进作用。此外,从有机物质的降解阶段来看,INT-ETS 活性也都较好地表征出 COD 的去除情况,即 INT-ETS 活性随着有机物质的降解而缓慢降低,当污水中有机底物去除完毕的同时,INT-ETS 活性突然转换到低活性阶段,这预示着污水中的有机底物已经被微生物利用完

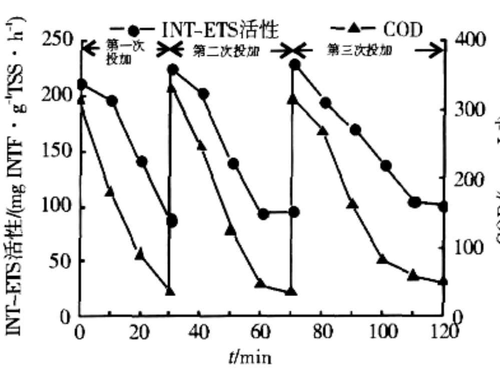


图 3 INT-ETS 活性和 COD 在间歇投加有机底物实验中的变化

Fig.3 Variation of INT-ETS activity and COD versus reaction time in the experiment of batch feed of organic substrate

毕,同时活性污泥微生物对有机物质的利用已经转移到另外一个阶段。

2.2 硝化过程中的 INT-ETS 活性变化

2.2.1 一次性投加氨氮

向反应器内投加的底物只含有硫酸氨及维持系统内充足碱度的碳酸氢钠。反应器内的初始 NH_4^+-N 浓度为 71.25 mg/L,污泥浓度为 5 300 mg/L。图 4 为反应器内硝化菌的 INT-ETS 活性及氨氮、硝态氮和亚硝态氮在硝化过程中随曝气时间的变化。

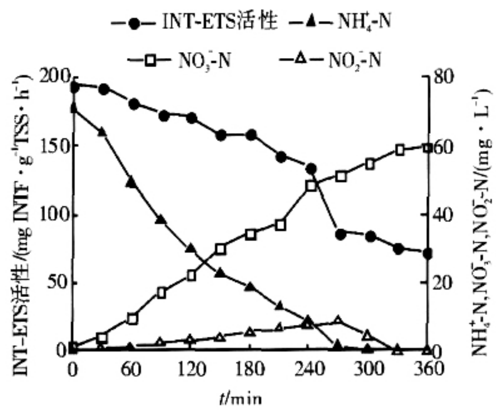


图 4 硝化过程中 INT-ETS 活性、氨氮、硝态氮和亚硝态氮随时间的变化

Fig.4 Variation of INT-ETS activity,ammonia, nitrate and nitrite versus reaction time during nitrification

由图 4 可见,硝化菌的 INT-ETS 活性在曝气过程中随着氨氮浓度的减小而降低,并在氨氮转化完毕(第 270 min)时,迅速降到低活性阶段。在反应的第 330 min,INT-ETS 活性再一次出现了较明显降低现象,这指示的是系统内的亚硝态氮已经完全转化为硝态氮。INT-ETS 活性在整个反应过程中出现的两个特征点,可以分别用于指示污水中的氨氮已经完全转化为硝态氮和亚硝态氮,以及亚硝态氮完全转化为硝态氮。

2.2.2 间歇性投加氨氮

向反应器内投加 2 次硫酸氨，系统初始运行条件为: NH_4^+-N 浓度 17.46 mg/L，污泥浓度 5 400 mg/L。间歇投加氨氮实验中，硝化菌的 INT-ETS 活性与氨氮、硝态氮和亚硝态氮之间关系的实验结果见图 5。由图 5 可见，在第一阶段里，随着硝化反应的不断进行，硝化菌的 INT-ETS 活性缓慢降低。反应 90 min，氨氮硝化反应结束，INT-ETS 活性突然下降。反应 150 min，亚硝态氮向硝态氮转化的反应结束，INT-ETS 活性又出现一次下降现象；当在第 180 min 再次投加硫酸氨时，硝化反应重新进行，硝化菌的 INT-ETS 活性突然开始恢复。在第二阶段的其它反应时间里，INT-ETS 活性重复第一阶段的变化规律。

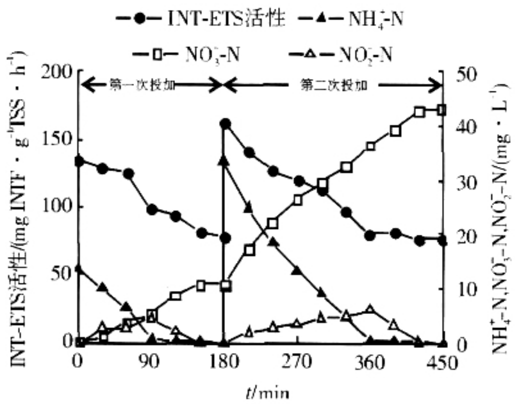


图 5 INT-ETS 活性、氨氮、硝态氮和亚硝态氮在间歇投加氨氮实验中的变化

Fig.5 Variation of INT-ETS activity, ammonia, nitrate and nitrite versus reaction time in the experiment of batch feed of ammonia

2.2.3 间歇性投加碱度

实验中共投加 2 次碱度，其中第一次投加的重碳酸盐碱度不能满足全部氨氮硝化的需要，剩余的氨氮利用第二次投加的碱度来完成硝化作用。反应器的初始氨氮浓度为 36.19 mg/L, pH 值为 7.59, 污泥浓度为 3 200 mg/L。在间歇性投加碱度实验中，硝化菌的 INT-ETS 活性与氨氮、硝态氮、亚硝态氮和 pH 值随时间的变化见图 6。

在第一次投加碱度后，随着硝化反应的不断进行，系统内 pH 值不断减小，当反应至第 120 min，体系内的 pH 值开始抑制氨氮硝化反应的进行，INT-ETS 活性开始迅速降低，并进入低活性阶段；第 180 min 第二次投加碱度时，pH 值迅速上升，硝化菌的呼吸作用增强，INT-ETS 活性突然恢复。在该阶段里，随着硝化进程的不断继续，系统 pH 值不断减小，硝化菌的 INT-ETS 活性逐渐降低。反应 270 min，pH 值的抑制作用又重新体现，硝化菌的 INT-ETS 活性出现了迅速降低的现象。反应 360 min，氨氮几乎转化完毕，硝化菌的 INT-ETS 活性又出现了一次降低的现象，该特征点的出现标志着氨氮已经转化完全，而 pH 值曲线也在此处出现一个凹点。结果表明，INT-ETS 活性可有效表征氨氮硝化过程中自养型硝化菌活性的变化，同时，用该参数还可以监控氨氮的硝化进程。

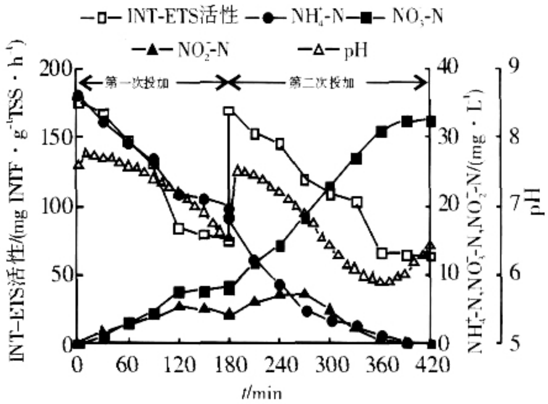


图 6 INT-ETS 活性、氨氮、硝态氮、亚硝态氮和 pH 值在间歇投加碱度实验中的变化规律

Fig.6 Variation of INT-ETS activity, ammonia, nitrate、nitrite and pH value versus reaction time in the experiment of batch feed of sodium bicarbonate

2.3 反硝化过程中的 INT-ETS 活性变化

实验中投加的硝态氮浓度为 67.91 mg/L, COD 浓度为 1 414.7 mg/L。反硝化细菌的 INT-ETS 活性与氨氮、硝态氮、亚硝态氮及 pH 值随时间的变化规律见图 7。

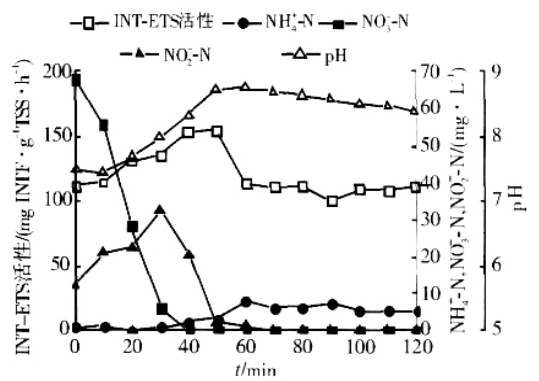


图 7 反硝化过程中 INT-ETS 活性、氨氮、硝态氮、亚硝态氮及 pH 值随时间变化规律

Fig.7 Variation of INT-ETS activity, ammonia, nitrate, nitrite and pH value versus reaction time during denitrification

由图 7 可见，在反硝化过程中，随着硝态氮浓度的减小，反硝化细菌的 INT-ETS 活性增加，体系内的 pH 值逐渐上升。当硝态氮转化完毕后（第 60 min），INT-ETS 活性先出现一次降低，然后进入平台期，并

一直持续到实验结束, pH 值则在此时达到峰值。该实验结果表明, INT-ETS 活性可以反映出硝态氮反硝化进程的变化。

2.4 污泥生物活性的动力学分析

在有机物质生物降解和氨氮硝化过程中, 活性污泥的 INT-ETS 活性与底物浓度之间也存在一定的线性关系, 这种线性关系可以用经典的 Michaelis-Menten 公式来表示。INT-ETS 活性(U^I)和最大 INT-ETS 活性(U_m^I)之间的关系与微生物比增殖速度(μ)和微生物最大比增殖速度(μ_m)之间的关系相似。这种关系可以用公式(2)来表达:

$$U^I=\frac{U_m^I S}{K_S^I+S} \tag{2}$$

式中: U^I为 INT-ETS 活性(mg INTTF·g^{-1} TSS·h^{-1}); U_m^I为最大 INT-ETS 活性(mg INTF·g^{-1} TSS·h^{-1}); K_S^I为米氏常数(mg·L^{-1}); S 为有机物质或氨氮(底物)浓度(mg·L^{-1})。

将有机物质降解和氨氮硝化过程中 INT-ETS 活性实验结果代入公式(2), 并利用双倒数法, 可求得有机物降解和氨氮硝化阶段的动力学常数U_m^I和K_S^I, 结果见图 8 和图 9。从求定的动力学常数来看, 有机物质降解过程中的U_m^I大于硝化过程中的U_m^I, 这从污泥微生物活性动力学角度验证了进行有机物质好氧氧化的异养菌生长速率高于进行硝化作用的硝化菌。

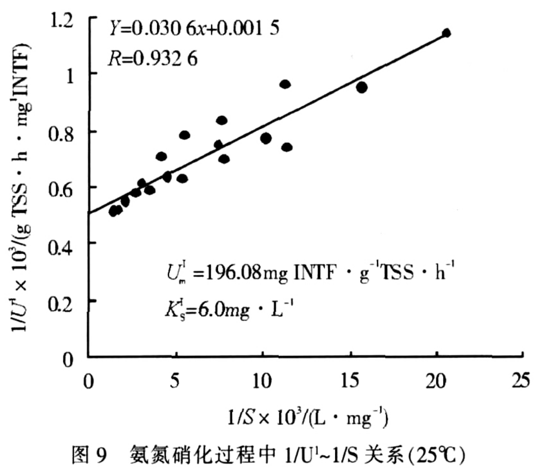


图 9 氨氮硝化过程中 $1/U^I$~1/S 关系(25℃)

Fig.9 Correlation between $1/U^I$ and 1/S during nitrification(25℃)

3 结论

(1) 在以单一有机物质、氨氮和硝态氮为底物的实验中, INT-ETS 活性均能有效地揭示出有机物质生物降解、硝化和反硝化进程的变化, 同时对系统受到的冲击负荷以及硝化过程中碱度的变化有着及时的感应。实验结果表明, 用 INT-ETS 活性表征污泥

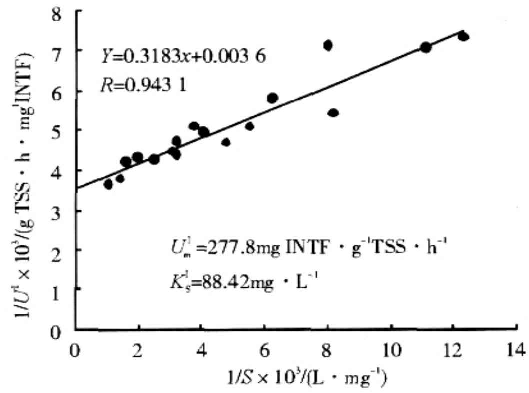


图 8 有机物降解过程中 $1/U^I$~1/S 关系(25℃)

Fig.8 Correlation between $1/U^I$ and 1/S during COD removal(25℃)

的生物活性是可行的。

(2) 污泥微生物 INT-ETS 活性的动力学分析结果进一步验证了进行有机物质好氧氧化的异养菌生长速率高于进行硝化作用的硝化菌。

参考文献

[1] 任南琪, 马放. 污染控制微生物学[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2002: 105-117.

[2] 沈同, 王镜岩. 生物化学(下册)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 56-73.

[3] 尹军, 谭学军, 任南琪, 等. 污泥电子传递体系(ETS)活性测定中萃取剂的选择[J]. 环境科学学报, 2004, 24(3): 413-418.

[4] Blenkinsopp S A, Lock M A. The measurement of electron transport system activity in river biofilms [J]. Water Research, 1990, 24(4): 441-445.

[5] Christine M C, Pernelle J J, Morin L, et al. Relevance of the INT Test Response as an indicator of ETS activity in monitoring heterotrophic aerobic bacterial populations in activated sludges [J]. Water Research, 1998, 32(4): 1213-1221.

[6] Lopez J M, Koopman B, Bitton G. INT-dehydrogenase test for activated sludge process control [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1986, 28: 1080-1085.

[7] Logue C, Koopman B, Asce M, et al. INT-reduction assays and control of sludge bulking [J]. Journal of Environmental Engineering, 1983, 109(4): 915-923.

[8] Kim C W, Koopman B, Bitton G. INT-dehydrogenase activity test for assessing chlorine and hydrogen peroxide inhibition of filamentous pure cultures and activated sludge [J]. Water Research, 1994, 28(5): 1117-1121.

[9] Yin J, Tan X J, Ren N Q, et al. Evaluation of heavy metal inhibition of activated sludge by TTC and INT-electron transport system activity tests[J]. Water Science and Technology, 2005, 52 (8): 231-239.

[10] 张自杰, 张忠祥, 龙腾锐. 废水处理理论与设计[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2003: 456-481.

[11] 周德庆. 微生物学教程(第 2 版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 101-147.