

用 TTC - ETS 活性表征污泥生物活性的可行性研究

谭学军¹, 尹 军^{1,2}, 唐 利¹, 任南琪¹

(1. 哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150090; 2. 吉林建筑工程学院 环境工程系, 吉林 长春 130021)

摘 要:通过考察有机物生物降解、硝化和反硝化过程中 TTC - ETS 活性的变化规律, 研究了 TTC - ETS 活性表征污泥生物活性的可行性. 试验结果表明, TTC - ETS 活性可以有效地揭示出有机物生物降解、硝化和反硝化反应的进程, 同时对系统受到的冲击负荷和硝化过程中碱度的变化有着灵敏的感应, 这说明用 TTC - 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; TTC - ETS 活性; 活性污泥

中图分类号: X703

文献标识码: A

文章编号: 1672 - 0946(2005)05 - 0566 - 06

Evaluation of activated sludge biological activity by TTC - ETS activity

TAN Xue-jun¹, YIN Jun^{1,2}, TANG Li¹, REN Nan-qi¹

(1. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2. Department of Environmental Engineering, Jilin Architectural and Civil Engineering Institute, Changchun 130021, China)

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

Key words: organic matter biodegradation; nitrification; denitrification; TTC - 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

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]. 目前应用最多的人工电子受体是氯化三苯基四氮唑 (Triphenyltetrazolium Chloride, 简称 TTC), 处于氧化态的 TTC 是溶于水的无色粉末, 还原后会在细胞内形成不溶于水的红色晶体——三苯基甲脂 (Triphenyl Formazan, 简称

收稿日期: 2005 - 06 - 30.

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2004AA601020); 吉林省重大科技发展计划项目(20040405 - 1).

作者简介: 谭学军(1976 -), 男, 博士, 研究方向: 水污染控制技术.

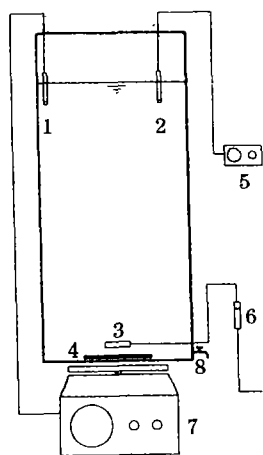
TF).由 TTC 检测出的 ETS 活性被称为 TTC-ETS 活性^[6-9].

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 类反应过程,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,而其余两者均属化能异养菌^[10].这 3 类反应过程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 TTC-ETS 活性的变化规律,系统研究 TTC-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研究报道.

1 材料与方法

1.1 试验装置

试验装置如图 1 所示.该装置呈圆柱形,由有机玻璃制成,总有效容积为 5 L.反应器底部装有微孔曝气器,采用鼓风曝气方式.经空压机压缩的空气通过砂心石芯曝气头扩散至反应器,供气量由转子流量计控制.反应器底部设一排泥口,用以排空剩余污泥.反应器的温度由温度传感器和底部的磁力搅拌器控制,该搅拌器的另一个作用是当反应器处于非曝气状态时,保持泥水混合均匀和底物与活性污泥的充分接触.反应器中装有 pH 值传感器,在线监测反应过程中 pH 值的变化.系统的运行温度控制在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$.



1—温度传感器;2—pH 值传感器;3—微引曝气器;
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 试验装置图

1.2 分析方法

1.2.1 TTC-ETS 活性

向 10 mL 离心管中加入 0.8 mL 污泥混合液、0.5 mL 的 3.6 g/L Na_2SO_3 溶液和 0.3 mL 的 4 g/L TTC 溶液.迅速将制备好的样品放在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的水浴振荡器内振荡培养 30 min,然后加 1 mL 的 37% 甲醛终止酶反应,以上操作均在暗处进行.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 的丙酮,搅拌混合均匀后,继续在 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下暗处振荡萃取 10 min.待样品萃取完毕,在 4 000 r/min 下再离心 5 min,将上清液和沉淀污泥分离.用分光光度计在 485 nm 处读取萃取液的吸光度.离心的沉淀污泥在 $(105 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下烘干 1 h 后测干重. TTC-ETS 活性的计算公式如下

$$U^T = \frac{D_{485} V}{K_T W t} \quad (1)$$

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

1.2.2 其他常规分析指标

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 试验室台式酸度计在线检测 pH 值.

1.3 试验方案

1.3.1 有机物降解试验

试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.在试验过程中,将取出的活性污泥置入图 1 所示的试验装置后,接着曝气 1 h,以保证其中的有机底物完全耗尽,氨氮完全硝化.在试验装置中加入 4 L 人工配制的只含碳源、不含氮磷营养物质的试验用水,开动磁力搅拌器搅拌 30 min,其目的是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 TTC-ETS 活性.在此后的曝气过程中,每 10 min 测定一次 TTC-ETS 活性.

1.3.2 硝化试验

硝化阶段试验污泥源、污泥量和试验装置均与有机物质降解试验相同.试验开始之前,剩余活性污泥首先在试验装置中曝气 1 h,以确保其中含有

的有机底物消耗完全.在该阶段试验中,试验装置中加入的底物只含有氨氮,体积为4 L.曝气系统启动后,先测定初始的TTC-ETS活性,在此后的时间内,每隔一定时间检测一次TTC-ETS活性.

1.3.3 反硝化试验

反硝化阶段试验污泥源、污泥量和试验装置均与上述两个试验相同.试验开始之前,首先将剩余活性污泥在试验装置中曝气1 h,其目的是保证其中含有的氨氮硝化完全.该阶段试验只向试验装置内加入含有硝酸盐氮的试验用水,体积为4 L.完成这些准备工作后,启动反应器底部的磁力搅拌器,并首先测定处于反硝化阶段的初始TTC-ETS活性.此后,每隔10 min进行一次TTC-ETS活性的检测.

2 结果与讨论

2.1 有机物降解过程中TTC-ETS活性的变化

2.1.1 一次性投加有机底物

在试验中,向反应器中只投加一次有机底物和碳酸氢钠.反应器的初始 COD_{cr} 质量浓度为970.75 mg/L,污泥质量浓度为5 000 mg/L左右.图2为反应器内COD和TTC-ETS活性在反应过程中随曝气时间的变化规律.

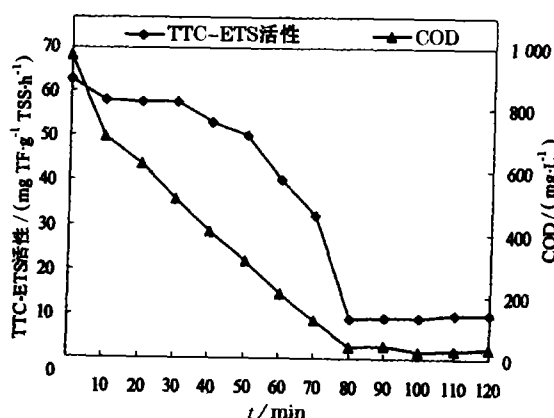


图2 TTC-ETS活性与COD随时间的变化

从图2可见,在有机物质降解过程结束之前(0~70 min),TTC-ETS活性随着COD的不断去除而逐渐降低;当有机物质降解过程完毕时(80 min),TTC-ETS活性迅速降低到低活性阶段,该现象即可用于判定系统对有机物质的降解过程完毕与否;当有机物质进入难降解阶段后,COD随时间的变化已经非常微弱,此时的TTC-ETS变化也非常小,基本保持平稳.该试验结果表明,TTC-ETS活性与有机物质的生物降解过程之间表现出良好的相关关系,即可以通过检测系统内污泥TTC-ETS

活性的变化来间接了解体系内的COD降解情况.

2.1.2 间歇性投加有机底物

为进一步考察TTC-ETS活性表征有机物质生物降解过程的可行性,本部分试验通过在系统曝气过程中间歇投加有机底物的方法,研究了TTC-ETS活性对有机负荷变化的响应情况.试验在不同的曝气阶段共间歇投加了3次有机底物,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质质量浓度,直接向反应器内投加有机底物.间歇投加有机底物试验中,TTC-ETS活性与COD随时间的变化规律见图3.

从图3可见,TTC-ETS活性对系统受到的有机负荷冲击有非常灵敏的反映,在系统正常运行时,每次在其中突然加入有机底物,TTC-ETS活性会瞬时提高,因此,TTC-ETS活性能够及时地指示出反应器内有机物质质量浓度的增加对系统污泥活性带来的促进作用.此外,从每个有机物质的降解阶段来看,TTC-ETS活性也都会较好地表征出COD的去除情况,即TTC-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,TTC-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.

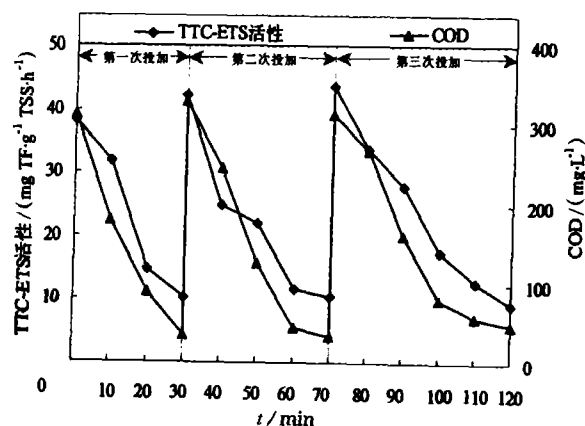


图3 间歇投加有机底物试验中，
TTC-ETS活性与COD随时间的变化

2.2 硝化过程中TTC-ETS活性的变化

2.2.1 一次性投加氨氮

试验中向反应器内投加的底物只含有提供氮源的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 质量浓度为71.25 mg/L,污泥质量浓度为5 300 mg/L左右.图4为反应器内硝化菌的TTC-ETS活性及氨氮、硝酸氮和亚硝酸氮

在硝化过程中随曝气时间的变化。

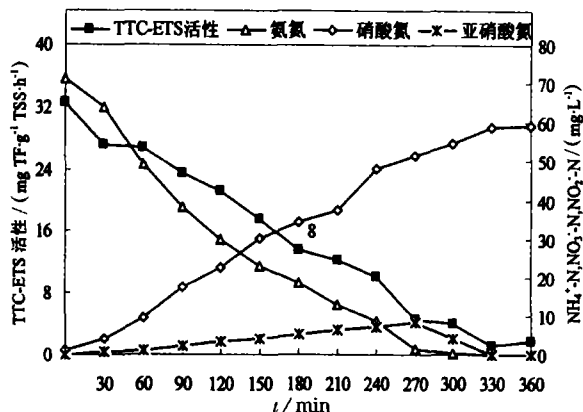


图 4 TTC—ETS 活性、氨氮、
硝酸氮和亚硝酸氮随时间的变化

从图 4 可见,硝化菌的 TTC - ETS 活性在曝气过程中随着氨氮质量浓度的减小而降低,并在氨氮转化完毕(第 270 min)时,迅速降低到低活性阶段.在反应的第 330 min, TTC - 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酸盐氮已经完全转化为硝酸盐氮. TTC - ETS 活性在整个反应过程中出现的 2 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酸盐氮和亚硝酸盐氮,以及亚硝酸盐氮完全转化为硝酸盐氮.

2.2.2 间歇性投加氨氮

试验中向反应器内投加 2 次硫酸氨,系统初始运行条件是: $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度为 17.46 mg/L,污泥质量浓度为 5 400 mg/L 左右.间歇投加氨氮试验中,硝化菌的 TTC - ETS 活性与氨氮、硝酸氮和亚硝酸氮之间关系的试验结果见图 5.

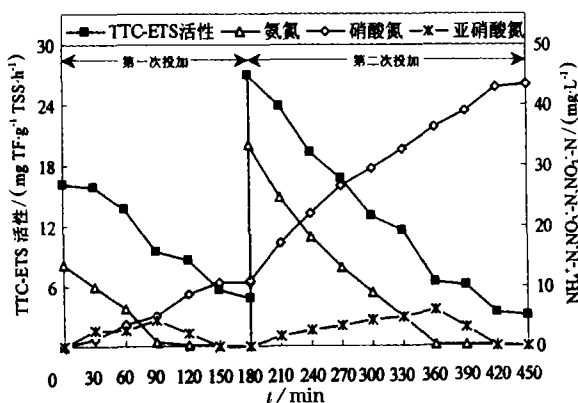


图 5 间歇投加氨氮试验中, TTC—ETS 活性与氨氮、
硝酸氮和亚硝酸氮随时间的变化

从图 5 可见,在第 1 个氨氮投加阶段里,随着硝化反应的不断进行,硝化菌的 TTC - ETS 活性缓慢降低.当反应至第 90 min,氨氮硝化反应结束, TTC - ETS 活性突然下降.反应至第 150 min,亚硝

酸氮向硝酸氮转化的反应结束, TTC - 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 TTC - ETS 活性突然开始恢复.在第 2 个氨氮投加阶段的其它反应时间里, TTC - ETS 活性重新出现第一阶段的变化规律.

2.2.3 间歇性投加碱度

试验过程中共投加 2 次碱度,其中第 1 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 2 次投加的碱度来完成硝化作用.反应器的初始氨氮质量浓度为 36.19 mg/L, pH 值为 7.59,污泥质量浓度为 3 200 mg/L 左右.在间歇性投加碱度的硝化试验中,硝化菌的 TTC - ETS 活性与氨氮、硝酸氮、亚硝酸氮和 pH 值随时间变化的试验结果见图 6.

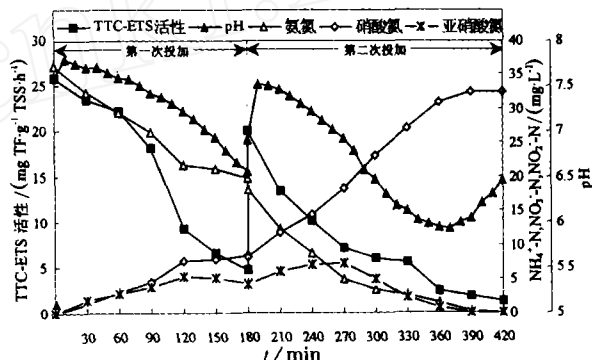


图 6 TTC—ETS 活性与氨氮、硝酸氮、亚硝酸氮和
pH 值在间歇性投加碱度的硝化过程中随时间的变化

在第 1 次投加碱度后,随着硝化反应的不断进行,系统内 pH 值的不断减小,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, TTC - ETS 活性开始迅速降低,并进入低活性阶段;在反应的第 180 min 第 2 次投加碱度的时候, pH 值迅速上升,硝化菌的呼吸作用增强, TTC - ETS 活性突然恢复.在该碱度投加阶段里,随着硝化进程的不断继续,系统 pH 值不断减小,硝化菌的 TTC - ETS 活性逐渐降低.当反应至第 270 min, pH 值的抑制作用又重新体现,硝化菌的 TTC - ETS 活性出现了迅速降低的现象,此时的氨氮已所剩无几.硝化在低反应速率阶段持续了 90 min 左右的时间以后,氨氮几乎转化完毕,硝化菌的 TTC - 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近转化完全,而 pH 值曲线也在此处出现一个凹点后,开始上升.这些试验结果表明, TTC - ETS 活性可以有效地表征出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。

2.3 反硝化过程中 TTC - ETS 活性的变化

试验中投加的硝酸氮质量浓度为 67.91 mg/L, COD 质量浓度为 1 414.7 mg/L. 反硝化细菌的 TTC - ETS 活性与氨氮、硝酸氮、亚硝酸氮及 pH 值随时间的变化规律见图 7.

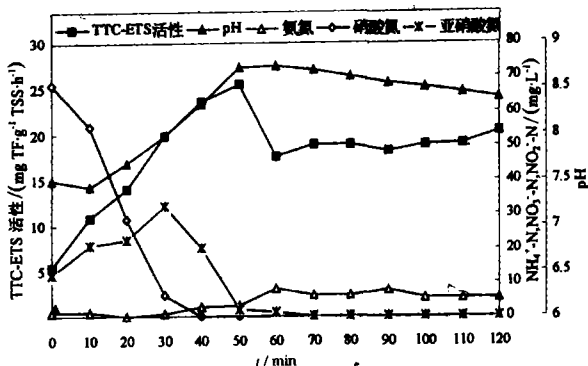


图 7 反硝化过程中 TTC-ETS 活性、氨氮、硝酸氮、亚硝酸氮和 pH 值随时间的变化

从图 7 中可见,在反硝化过程中,随着硝酸氮质量浓度的减小,反硝化细菌的 TTC - ETS 活性增加,体系内的 pH 值逐渐上升.当硝酸氮转化完毕后(第 60 min),TTC - ETS 活性先出现一次降低,然后进入平台期,并一直持续到试验结束,pH 值则在此时达到峰值.该试验结果表明,TTC - 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 TTC - ETS 活性与底物质量浓度之间也存在一定的线性关系,这种线性关系可以以经典的 Michaelis - Menten 公式来表示. TTC - ETS 活性 (U^T)和最大 TTC - ETS 活性 (U_m^T)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:

$$U^T = \frac{U_m^T S}{K_s^T + S} \quad (2)$$

式中: U^T 为 TTC - ETS 活性 ($\text{mg TF} \cdot \text{g}^{-1} \text{TSS} \cdot \text{h}^{-1}$); U_m^T 为最大 TTC - ETS 活性 ($\text{mg TF} \cdot \text{g}^{-1} \text{TSS} \cdot \text{h}^{-1}$); K_s^T 为米氏常数 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); S 为有机物质或氨氮(底物)质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

将前述有机物质降解和氨氮硝化过程中 TTC - ETS 活性试验结果代入公式(2),并利用双倒数法,可以求得有机物质降解和氨氮硝化阶段的动力学常数 U_m^T 和 K_s^T ,结果见图 8、9.从求定的动力学常

数来看,有机物质降解过程中的 U_m^T 大于硝化过程中的 U_m^T ,这从污泥微生物活性动力学角度验证了,进行有机物质氧化的异养菌的生长速率高于进行硝化作用的硝化菌.

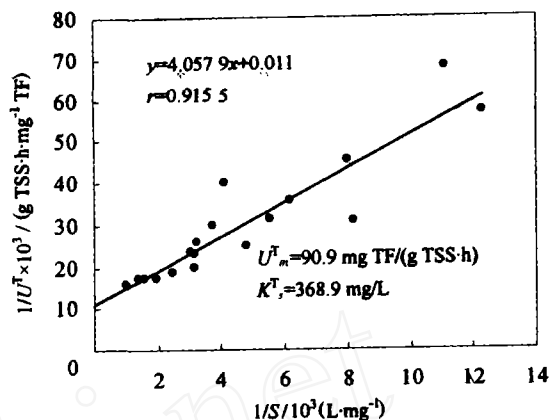


图 8 有机物质降解过程中 $1/U^T \sim 1/S$ 关系 (25 °C)

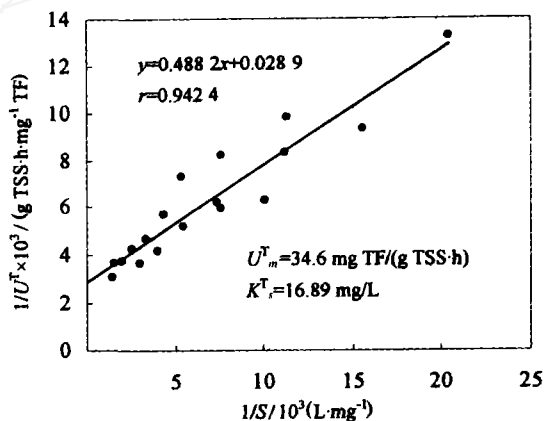


图 9 氨氮硝化过程中 $1/U^T \sim 1/S$ 关系 (25 °C)

3 结 论

1)在以单一有机物质、氨氮和硝态氮为底物的试验中,TTC - 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.试验结果表明,用 TTC - ETS 活性表征污泥的生物活性是可行的.

2)污泥微生物 TTC - ETS 活性的动力学分析结果进一步验证了,进行有机物质氧化的异养菌的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.
- [2] 沈 同,王镜岩.生物化学(下册)[M].北京:高等教育出版

- 社,1990.
- [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] KLAUWIJK A, DRENT J, STEENVOORDEN J H A M. A modified procedure for the TTC-dehydrogenase test in activated-sludge [J]. Water Research, 1974, 8: 121-125.
- [7] RYSSOV-NIELSEN H. Measurement of inhibition of respiration in activated sludge by a modified determination of the TTC-dehydrogenase activity [J]. Water Research, 1975, 9: 1179-1185.
- [8] 朱南文,闵 航,陈美慈,等. TTC-脱氢酶测定方法的探讨 [J]. 中国沼气,1996,14(2):3-5.
- [9] 尹 军,谭学军,任南琪.用 TTC 与 INT-电子传递体系活性表征重金属对污泥活性的影响 [J]. 环境科学,2005,26(1):56-62.
- [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.
- [11] 周德庆.微生物学教程(第2版) [M]. 北京:高等教育出版社,2002.

(上接 565 页)

参考文献:

- [1] 任南琪,林 明,马汐萍,等.厌氧高效产氢细菌的筛选及其耐酸性研究 [J]. 太阳能学报,2003,24(1):80-84.
- [2] 严陆光,崔戎强. 21 世纪太阳能新技术 [M]. 上海:上海交通大学出版社,2003. 814-818.
- [3] 林 明,任南琪,王爱杰,等. 产氢发酵细菌培养基的选择和改进 [J]. 哈尔滨工业大学学报,2003,35(4):398-402.
- [4] TANISHO S, L SHIATA Y. Continuous hydrogen production from molasses by the bacterium *Enterobacter aerogenes* [J]. Int J Hydrogen Energy, 1994, 19(10):807-812.
- [5] TAGUCHI F, MIZUKAMI N, HASEGAWA K. Microbial conversion of arabinos and xylose to hydrogen by a newly isolated *Clostridium* sp [J]. Can J Microbiol, 1994, 40:228-233.
- [6] TAGUCHI F, CHANG J D, MIZUKAMI N, *et al.* Isolation of a hydrogen-producing bacterium, *Clostridium beijerinckii* strain AM21B, from termites [J]. Can. J. Microbiol, 1993, 39:726-730.
- [7] JAMES D, BROSSEAU, ZAJIC J E. Hydrogen-gas production with *Citrobacter intermedius* and *Clostridium pasteurianum* [J]. J Chen Tech Biotechnol, 1982, 32:496-502.
- [8] KUMAR N, DAS D. Enhancement of hydrogen production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT08 [J]. Proc Biochem, 2000, 35:589-593.
- [9] OOSHIMA H, TAKAKUWA S, KATSUDA T, *et al.* Production of hydrogen by a hydrogenase-deficient mutant of *Rhodobacter capsulatus* [J]. J Ferment Bioeng, 1998, 85(5):470-475.
- [10] 陈晓蕾. 产氢发酵细菌顶级群落研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨建筑大学,1998.
- [11] YUKOI H, OHKAWARA T. Characteristics of hydrogen production by aciduric *E. aerogenes* strain HO-39 [J]. J. Ferment Bioeng, 1995, 80(6):571-574.
- [12] 李白昆. 有机废水发酵法生物制氢原理—产氢细菌产氢机理和能力 [D]. 哈尔滨:哈尔滨建筑大学,1999.
- [13] INGRAHAM J L. Introduction to microbiology [M]. USA: Brook/Cole Dub. Co, 2000. 209-233.
- [14] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京:科学出版社,2001.