

流通式 BOD 微生物传感检测仪的研制

李 捷¹, 吴 昊², 李洛娜¹

(1. 青岛理工大学环境与市政工程学院, 山东 青岛 266033; 2. 郑州航空工业管理学院计算机科学与技术系, 河南 郑州 450015)

摘要 以假单胞菌作为供试微生物, 采用聚乙烯醇包埋法获得性能稳定的高灵敏流通式 BOD 微生物传感检测仪。通过对国家标准试样和不同水质污水的测试表明, 该检测仪测量周期为 8 min, 具有自动化程度高、测量周期短的优点, 误差率和偏差率均小于 6%, 准确度、稳定性均达到国家标准, 且对不同水质具有较好的适应性。

关键词 生化需氧量 微生物传感检测仪 流通式

中图分类号 X853 **文献标识码** B **文章编号** 1004-6933(2009)04-0055-03

A new design of circulating microbial BOD detector

LI Jie¹, WU Hao², LI Luo-na¹

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Qingdao Technological University, Qingdao 266033, China; 2. Department of Computer Science and Application, Zhengzhou Institute of Aeronautical Industry Management, Zhengzhou 450015, China)

Abstract : A highly sensitive microbial sensor was developed. It used pseudomonas as testing microbes and was embedded by PVA. Testing the instrument with a national standard sample and different polluted water showed that the measuring period was about eight minutes. Both relative error and analytical standard deviation were less than 6%. The instrument has the advantage of high autoimmunization and a short measuring period. The accuracy and stability of the instrument met the national standard, and the suitability to different levels of water quality was also good.

Key words : BOD ; microbial sensor ; circulating

生化需氧量(BOD)是水质检测中的一项主要指标, 一般测定方法包括: 5 日培养法、瓦勃式呼吸仪法、短时日法、坪台值法和检压式库仑计法等^[1]。目前国内常用的是 5 日培养法, 但该方法存在用时较长(5 d)、结果重现性不好等缺点, 已很难适应目前环境监测工作的需要。因此, 如何准确而快速地测定 BOD 是目前水质检测中的难点问题^[2]。

1977 年, Karube 等^[3]发现通过分离活性污泥中的微生物菌体制成生物膜传感器可以用来测量 BOD, 测定周期仅几十分钟。此后, 国外在 BOD 快速检测方面进行了大量研究, 商品化的 BOD 微生物传感检测仪相继面世^[4]。近 10 年来, 我国对于 BOD 的快速测定也进行了许多研究, 但真正形成产品的很少^[5-8]。2002 年 7 月, 国家正式公布了 BOD 微生

物传感检测仪快速测定行业标准^[9]。目前我国的 BOD 微生物传感检测仪多采用加入法进行测量, 但是由于该方法自动化程度低, 测量结果稳定性较差, 且与 BOD₅ 存在明显差异而未能广泛应用^[10-12]。为此, 笔者联合青岛博华环保科技有限公司, 从水样中筛选出高效纯菌种后, 采用夹膜法制作固化微生物膜, 以氧电极作为换能器, 开发出基于动态进样的流通式 BOD 微生物传感检测仪, 以期实现更为快速准确的 BOD 实时测量。

1 仪器的各部分设计

1.1 生物膜

生物膜菌种分离自山东省泰安市华阳农药厂污水处理站的氧化沟。经 3 次平板分离筛选到性状稳

定的菌种一株。使用美国 BIOLOG 公司的 BIOLOG 自动微生物分析系统 (Microlog3) 分析, 确定该菌种为假单胞菌 (*Pseudomonas. sp*), 代号 PS05726。将适量湿菌体与固定化材料 (聚乙烯醇) 按体积以 1:2 配比混合进行一次化学包埋, 再用孔径为 $0.45\ \mu\text{m}$ 的纤维素滤膜进行二次物理包埋处理。

1.2 生物传感器

自行研制带有黄金电极的氧传感器, 制作一个螺盖, 将 1.1 中制作的生物膜固定在传感器前端。

1.3 充氧恒温测量系统

a. 流通充氧复氧系统。采用变频式充气泵充氧复氧, 通过芯片控制氧传感器, 以保证测量池内溶解氧浓度的恒定。该设计有如下优势: (a) 无需通过微量进样器加样, 减少了人工操作和系统误差; (b) 采用流通式连续进样测定, 不仅使传感器的性能更加稳定, 而且为 BOD 的在线测定奠定了技术基础; (c) 克服了传统注射式 BOD 检测仪为了使溶解氧达到饱和, 必须将传感器稳定于溶液表面附近, 导致复氧过程中气泡上升后可能在传感器顶端微生物膜周围附着, 产生系统误差, 干扰数据准确性的弊端。流通充氧复氧系统可以保持水中溶解氧浓度恒定, 所以传感器可深入液面下, 彻底消除气泡附着的现象。

b. 搅拌混合系统。采用内置磁力搅拌器进行搅拌混合, 兼具搅拌混合和复氧作用。

c. 恒温控制系统。采用水浴加热, 利用芯片控制热敏电阻工作, 保持测量池温度恒定。

1.4 数据处理系统

生物膜传感器探头将溶解氧浓度变化转化为电信号, 再经过 A/D 放大转换器转化并进行信号放大处理。当 1 min 内电压变化小于 $0.005\ \text{V}$ 时, 系统程序可达到平衡。标定时, 通过微处理器的运算绘制标准曲线; 测量时, 通过计算电流差值后输出 GGA (standard glucose-glutonic acid, 标准葡萄糖-谷氨酸溶液) 值变化和相应的 BOD 值, 并可进行数据存储和打印。

2 工作原理

将制成的生物膜片置于氧电极前端, 磷酸氢二钾缓冲液经恒温管加热至工作温度, 经三通管与一定流速的空气混合成固定的气液体积比进入测量池中。此时膜上微生物进行基础代谢, 其呼吸速率恒定。当溶液中的溶解氧扩散进入氧电极表面的速率达到恒定时, 其产生的电流信号输出也达到恒定, 其相对最大的电流值, 称为本底电流信号。

当未知水样存在可溶性有机物, 并可为生物膜

上细胞所降解时, 待测样进入测定槽与生物传感器相接触, 生物膜中微生物通过呼吸作用分解可溶有机物, 细胞呼吸强度增加。同时利用溶液中的溶解氧, 相应其扩散进入电极表面的溶解氧速率减小, 输出电流值降低, 几分钟后达到新的动态平衡, 并产生一个新的电流信号。上述两种电流信号之差与进入流通测量池中基质浓度呈线性关系, 从而可以计算待测液 BOD 质量浓度值。见图 1。

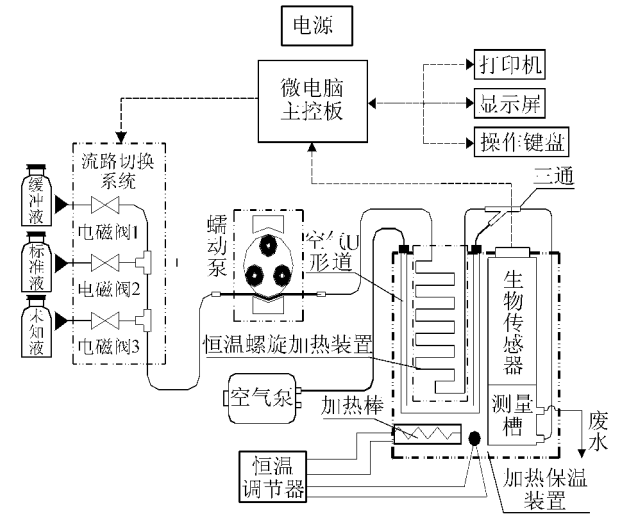


图 1 流通式 BOD 微生物传感检测仪的工作原理

3 测试结果

3.1 测量周期

测量周期为从测量开始到仪器打印结果的时间。测量周期约为 8 min。

3.2 样品测试结果

通过对国家标准试样和不同来源污水的实际测试, 对仪器测量的准确性、稳定性以及仪器对不同水质的适应性进行了检验。

3.2.1 示值误差

为保证测量的公正性, 特委托青岛市环境保护局对从国家环境保护总局购买的 4 种不同质量浓度的标准试样进行检测, 6 次平均结果见表 1。显著性测试表明, 流通式 BOD 微生物检测仪测量值与标准试样保证值无显著差异 ($p < 0.05$), 说明仪器测试准确度高, 相对偏差小于 5%, 符合 HJ/T86—2002《水质生化需氧量 (BOD) 的测定微生物传感器快速测定法》。

表 1 国家标准试样 BOD 质量浓度检测结果

标准 样品号	$\rho(\text{BOD})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$		相对 偏差/%
	仪器测定值	标准试样保证值	
1	66.2	67.5	-1.9
2	105.2	101.3	4.7
3	82.5	80.6	-2.3
4	75.6	72.8	3.1

3.2.2 示值稳定性

济宁市污水处理厂应用流通式 BOD 微生物检测仪在 2 d 内对该厂进水和出水水样进行 6 次连续测量,结果见表 2。测定结果表明,该仪器平均偏差进水水样测定结果为 4.7%,出水水样为 5.7%,BOD 测量的稳定性较好。

表 2 济宁市污水处理厂 BOD 质量浓度连续检测结果

测试次数	$\rho(\text{BOD})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	
	进水水样	出水水样
第 1 次	1 140.2	130.1
第 2 次	1 089.5	141.1
第 3 次	1 020.4	125.8
第 4 次	1 001.9	119.6
第 5 次	1 067.5	120.1
第 6 次	1 123.2	128.1
平均值	1 073.8	127.5

3.2.3 实际水样对比实验

青岛市环境保护局环境监测中心应用流通式 BOD 微生物检测仪对不同来源的多种水样进行检测,结果见表 3。经显著性检验,该仪器测定水中 BOD 质量浓度值与 5 日培养法无显著差异($p < 0.05$),说明该仪器生物膜对于不同污染物具有良好的降解性。

表 3 青岛市环境监测站实际水样 BOD 质量浓度检测结果

样品来源	$\rho(\text{BOD})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$		相对偏差/%
	仪器测定值	5 日培养法	
青岛啤酒一厂	2 089.1	1 998.7	4.5
李村河污水处理厂	452.9	471.3	- 4.0
青岛市第二毛纺厂	144.5	140.9	2.5
青岛食品厂	116.7	118.8	- 1.8
青岛永兴化工厂	895.1	874.0	2.4

4 结论与讨论

本文采用流通式充氧加样系统,实现了加样与充氧的同步化,不仅解决了以往流动注射式 BOD 检测仪中人工加样的系统误差^[5],而且可以保证仪器在连续测样时的系统稳定性。与传统的 5 日培养法相比,使用流通式 BOD 微生物检测仪不仅可以大大缩短测量周期,在环境监测中实现快速实时的 BOD 检测,而且通过对国家标准试样的测试结果表明,该检测仪还具有准确度高的优点。对于不同来源的水样的测试结果表明,与以往所使用的皮丝状芽孢酵母等^[5-6,11]相比,使用假单胞菌作为供试微生物不仅测量稳定性良好(偏差小于等于 5%),而且可以适用于不同来源的水样测定。

参考文献:

[1] 李洛娜,周颖,蔡琦,等. BOD 微生物传感器检测仪

(BODs)研究进展[J]. 净水技术,2007,26(6) 54-58.

[2] GHANGREKAR M,SHINDE V. Performance of membrane-less microbial fuel cell treating wastewater and effect of electrode distance and area on electricity production [J]. Bioresource Technology,2007,98 2879-2885.

[3] KARUBE I,MATSUNAGA T. Microbial electrode BOD sensor [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1977, 19 (7) :1535 - 1541.

[4] NAKAMURA H,SUZUKI K,ISHIKURO I,et al. A new BOD estimation method employing a double-mediator system by ferricyanide and menadione using the eukaryote saccharomyces cerevisiae[J]. Talanta,2007,72 210-216.

[5] 李捷,宋志文,孙新成,等. 新型 BOD 微生物传感流动注射检测仪的研制[J]. 环境污染治理技术与设备,2005,6 (3) 91-94.

[6] 李花子,王建龙,张悦,等,酵母菌 BOD 微生物传感器的研究[J]. 高技术通讯,2002,12(3) 38-92.

[7] 邢国良,周慧民. 生物化学需氧量分析仪的研制及应用 [J]. 分析测试仪器通讯,1996,6(1) 29-32.

[8] 杜晓燕,王德才,陈文华,等. BOD 微生物传感器和快速 BOD 测定仪的研制[J]. 传感器技术,1998,17(4) 27-29.

[9] 王德龙. 微生物传感器快速测定 BOD 的标准方法颁布实施 [J]. 中国给水排水,2003,19(5) 75-76.

[10] 崔建升,马莉,王晓辉,等. BOD 微生物传感器研究进展 [J]. 化学传感器,2005,25(1) 6-10.

[11] 陈宁,焦国嵩,牟宇翔,等. BOD 微生物传感器和 BOD 智能生物检测仪的研究 [J]. 中国环境监测,2002,18(2) : 48-50.

[12] 孙裕生,刘宪梅,祁建珍,等. 长寿命 BOD 微生物膜传感器的研究 [J]. 环境科学,1992,13(4) 59-62.

(收稿日期 2007-04-16 编辑 胡新宇)

·简讯·

“第 2 届中国环境社会学学术研讨会”
在河海大学举行

“第 2 届中国环境社会学学术研讨会”于 2009 年 4 月 25 ~ 26 日在河海大学举行。会议由河海大学社会学系、河海大学中国移民研究中心、中国人民大学社会学理论与方法研究中心等单位联合主办,河海大学社会学系承办。来自中国社会科学院、中国人民大学、中山大学、中央民族大学和中国海洋大学等科研机构和高校的 70 多位专家学者,围绕‘水·环境与和谐社会建设’的主题,对涉水等环境问题进行了广泛而深入的探讨。与会代表就‘环境社会学理论与方法’、“环境与资源”、“人-水和谐机制”、“水污染、人类健康与社会安全”、“环境移民”、“环境行动”和‘环境治理’等专题作了研讨。

(河海大学社会学系供稿)