

基于硝酸盐液膜微电极的动态膜反硝化特性研究

周小红, 施汉昌*, 蔡强

(清华大学环境科学与工程系环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 制成性能良好的硝酸盐微电极与氧化还原电位(ORP)微电极, 对动态膜在不同进水 COD 负荷下的内部反硝化过程进行研究。结果表明, 动态膜中的反硝化作用出现在膜水界面 0.6~1mm 以下; 在反硝化发生的区域, 用 ORP 微电极测得氧化还原电位在 88.6~ -128.4mV 之间, 是反硝化发生的适宜 ORP 范围。当进水 COD 负荷为 0.45 kg/(m³·d) 时, 动态膜的反硝化速率(以氮计)最大, 可以达到 $0.6347 \times 10^{-6} \text{ mol/(L} \cdot \text{s)}$ 。增加进水 COD 负荷能够拓展动态膜内部的反硝化区域, 且动态膜内出现反硝化速率不同的 2 层, 体现了有机物浓度、溶解氧的抑制作用及菌群竞争对反硝化速率的影响。

关键词: 动态膜; 反硝化; 微电极; 硝酸盐; ORP

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)09-1781-05

Study on Denitrification Characteristics of Dynamic Membrane Based on Nitrate Liquid-Membrane Microelectrodes

ZHOU Xiao-hong, SHI Han-chang, CAI Qiang

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Nitrate microelectrodes and ORP microelectrodes were fabricated to study the denitrification characteristics of dynamic membrane at different COD loadings. The denitrification process was found at 0.6~1mm depth beneath the interface of biofilm/bulk. The results of ORP microelectrode also demonstrated that the ORP value in the range of denitrification area was between 88.6~ -128.4 mV which was appropriate to denitrification. When the COD loading was 0.45 kg/(m³·d), the denitrification rate ($\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$) was the maximum of $0.6347 \times 10^{-6} \text{ mol/(L} \cdot \text{s)}$. With the increase of COD loading, the denitrification area was increasing and two layers with different denitrification rates emerged in the dynamic membrane. The phenomenon implied the effect of organic concentration, oxygen concentration and bacterial competition on the denitrification rate.

Key words: dynamic membrane; denitrification; microelectrode; nitrate; ORP

动态膜-生物反应器是用粗网材料替代微滤与超滤膜, 实现活性污泥固液分离的一种新型生物反应器^[1]。以往的研究表明, 动态膜-生物反应器具有良好的碳氧化和硝化功能^[2], 在粗网材料上沉积的动态膜具有一定的好氧生物活性^[3], 在膜水界面以下 1mm 左右, 溶解氧浓度降至 0.2 mg/L 左右, 同时存在大量的硝化产物——硝酸根离子, 能够为动态膜的反硝化提供条件。动态膜内的硝酸根浓度变化可以反映出膜内部的反硝化细菌的分布及其活性状况。

硝酸盐微电极能够测得动态膜内部硝酸盐的浓度分布, 它的尖端直径可小至 1μm, 具有很高的空间分辨率, 而且测试过程中不会对生物膜的结构造成破坏, 有利于真实反映动态膜内的微环境。上个世纪 80 年代末, 有关硝酸根离子选择性液膜微电极用于湖泊沉积物内部特性的研究已见报道^[4, 5]。其后, 在与其它微电极的辅助应用下, 硝酸盐液膜微电极成为研究生物膜^[6, 7]、生物絮体^[8, 9]及湖泊底

泥^[10, 11]内部硝化、反硝化特性的重要工具。继采用溶解氧微电极对动态膜的好氧活性进行研究后^[3], 本实验尝试采用硝酸盐微电极进行测试工具, 研究在不同 COD 负荷下动态膜内部的反硝化特性, 并结合氧化还原电位(ORP)微电极定性或定量地对动态膜内部反硝化菌的分布状况及其活性进行分析。

1 材料与方法

1.1 动态膜运行条件的模拟

本研究内容包括建立微型动态膜-生物反应器, 模拟动态膜在反应器内的运行条件, 反应器结构如图 1(a) 所示。从膜生物反应器中取一定体积的活性污泥加入到反应器中, 当粗网材料上沉积了一层厚约 10mm 的动态膜时, 开始运行反应器, 实验系统如

收稿日期: 2005-07-22; 修订日期: 2005-10-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(50478009); 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2005CB724901)

作者简介: 周小红(1981~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为环境电化学。

* 通讯联系人, E-mail: hanchang@mail.tsinghua.edu.cn

图 1(b) 所示. 以膜生物反应器出水为进水, 采用重铬酸钾法、纳氏分光光度法和紫外分光光度法测量进水 COD、氨氮及硝氮浓度. 添加葡萄糖调节 COD 负荷, 进水流量为 $24 \mu\text{L/s}$, 粗网材料的过滤面积为 30cm^2 , 膜通量可以达到 $28 \text{ L}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$. 通过电化工作站 (CHI660, 上海辰华仪器公司) 实现微电极的测试和数据结果的采集.

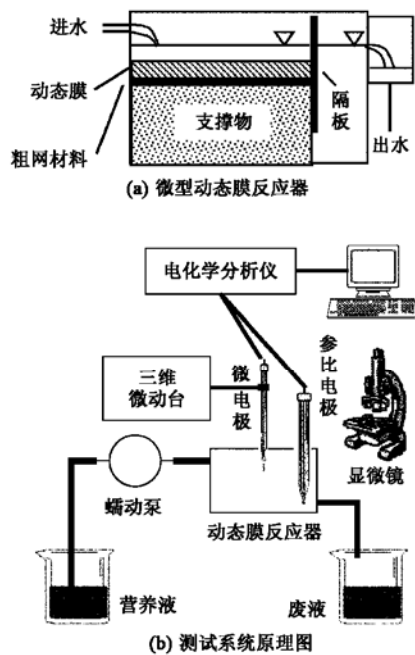


图 1 动态膜测试装置

Fig. 1 Experimental set-up of dynamic membrane

1.2 硝酸盐微电极的研制

与文献[12]制作硝酸盐液膜微电极的方法相似, 以 GG17 毛细玻璃管为材料, 采用微电极拉制仪制作吸管型硝酸盐液膜微电极. 电极尖端直径在 $15\mu\text{m}$ 左右, 液膜层厚度在 $200 \sim 300\mu\text{m}$ 之间. 液膜采用 Fluka 74529, 其组成成分如表 1.

表 1 硝酸盐微电极液膜成分

Table 1 Liquid-selective membrane compositions of nitrate microelectrodes

液膜组分	质量分数/%
三(十二烷基)甲基硝酸铵	1.5
2-硝基苯基辛基醚	16.25
硝化纤维素, 35% 乙醇溶液	1.93
甲基三苯基溴化磷	0.25
高分子量聚氯乙烯	5.75
四氢呋喃	74.32

液膜表面包裹蛋白层, 防止生物膜中疏水性物质的干扰. 灌注的内参比溶液为分析纯 0.1 mol/L

KNO_3 与 0.1 mol/L KCl 混合液. Ag/AgCl 丝充当内参比电极和导线, 毛细管上端用环氧树脂封口. Ag/AgCl 饱和 KCl 电极为外参比电极. 用开路电压法测量微电极对硝酸盐离子的能斯特电位:

外参比电极 || 测试样品或标准溶液 || 液膜 | 0.1 mol/L KNO_3 + 0.1 mol/L KCl | AgCl/Ag

1.3 氧化还原电位(ORP)微电极的研制

与文献[13]制作 ORP 微电极的方法相似, 用微电极拉制仪将 GG17 毛细玻璃管拉制为尖端直径在 $10\mu\text{m}$ 的吸管型电极毛坯柱, 毛坯柱内灌注低熔点合金 (熔点 47°C), 其成分为: 44.5% Bi, 22.45% Pb, 19.1% In, 8.3% Sn, 5.3% Cd. 采用如下成分的镀铂溶液: 18mL 去离子水, 2mL 10% 氯铂酸及 0.2mL 1% 醋酸铅混合. 保持电镀条件为: 电镀电压 $0.5 \sim 0.8\text{V}$, 电镀电流 $3 \sim 8\text{nA}$, 电镀时间 $10 \sim 30\text{min}$, 温度为室温 (20°C 左右). 电极尖端形成镀铂层, 作为氧化还原物质进行电子交换的场所. 取 1 根铜丝插入毛细管中与低熔点合金融合, 并作为导线引出, 毛细管上端用环氧树脂封口. 测试中以 Ag/AgCl 饱和 KCl 电极为参比电极.

1.4 动态膜内硝酸盐及 ORP 分布曲线的测定

在体式显微镜 (XTL-20, 北京泰克仪器有限公司) 的观察下, 调节微动平台, 使微电极位于动态膜与主体溶液的交界面, 然后以 $100\mu\text{m}$ 为调节步长向下移动微电极, Ag/AgCl 电极固定于主体溶液中的某一位置充当参比电极. 为防止测量过程中的电磁干扰, 微型动态膜反应器放于 $40\text{cm} \times 60\text{cm}$, 高 60cm 的屏蔽箱中. 通过屏蔽线将微电极与参比电极信号导出屏蔽箱, 经过电化学分析仪输入计算机中. 测试过程中, 关闭进、出水, 在测试时间段, 认为动态膜内部为稳态. 为减少动态膜不均匀造成的测量偏差, 以下的测试结果均集中在动态膜 $1\text{mm} \times 1\text{mm}$ 的微小区域内.

1.5 动态膜反硝化速率的计算

根据 Fick 第二扩散定律:

$$\partial c(x, t) / \partial t = \Phi \cdot D_s \cdot [\partial^2 c(x, t) / \partial x^2] - R(x) \quad (1)$$

式中, $c(x, t)$ 为膜水界面以下 x 距离处, t 时刻的硝酸盐浓度; Φ 为孔隙率, D_s 为硝酸盐在纯水中的扩散系数 (cm^2/s), 反应器进水水温保持在 20°C 左右, 在此温度下硝酸盐于纯水中的扩散系数取为: $1.23 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$, $\Phi \cdot D_s$ 取为纯水中扩散系数的 60%, 即 $0.738 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$; $R(x)$ 为膜水界面以下

x 距离处硝酸盐的反应速率 $[\text{mol}/(\text{cm}^3\cdot\text{s})]$, 如未作特别说明, 均以 N 计。

相对于扩散和反应造成的物质浓度变化过程, 生物膜中生物量的增长造成的物质浓度变化这一缓慢过程可以忽略不计, 即认为动态膜达到稳态, 此时 $\partial c(x, t)/\partial t = 0$ 。方程(1)可以简化为:

$$R(x) = -\Phi \cdot D_s \cdot [\partial^2 c(x, t)/\partial x^2] \tag{2}$$

通过对沿膜深度方向上硝酸盐分布曲线进行分析, 可以获得硝酸盐浓度随深度的二阶导数, 根据方程(2)可以求得动态膜内沿膜面以下 x 深度处的反硝化速率。

2 结果与讨论

2.1 硝酸盐微电极的标定

配制浓度分别为 0.01 mol/L, 0.001 mol/L, 0.000 1mol/L 的硝酸盐标准溶液, 作为硝酸盐微电极的定标液。根据能斯特方程, 电极响应曲线的标准斜率为: $2.303RT/nF$, 在整个测试温度为 20℃左右的室温时, 其灵敏度为 58.2 mV/lg[KNO_3]。采用 3 点标定法, 分别对 4 个批次制作的电极进行标定试验, 灵敏度分别为: 56.95, 52.15, 50.40, 54.25 mV/lg[KNO_3], 与标准值的偏差为 2%~14%, 响应曲线的线性拟合程度很好, 相关系数 $R^2 > 0.998$ 。微电极的响应时间在 30 s 左右, 尖端直径 < 15 μm 。考虑到污水测量中常见离子: Cl^- 、 NO_2^- 、 HCO_3^- 的干扰作用, 采用混合溶液法测试微电极对干扰离子的选择性系数, Cl^- 为 -2.30, NO_2^- 为 -1.70, HCO_3^- 为 -3.30。

2.2 ORP 微电极的标定

配制 3 种氧化还原标准溶液: ①靛氢醌饱和的 pH 4 缓冲溶液; ②靛氢醌饱和的 pH 7 缓冲溶液; ③ 0.003 3 mol/L 铁氰化钾、0.003 3mol/L 亚铁氰化钾与 0.1 mol/L 氯化钾的混合液。前 2 种为 ASTM 协会推荐标定液 (ASTM D1498-93)。测试中以 Ag/AgCl/饱和 KCl 电极为参比电极, ORP 微电极为工作电极, 分别测量对 3 种标准溶液 10min 内的能斯特响应, 并将测试结果与市售组合式 ORP 电极 (Cole-Parmer, CZ-59001-75) 的测试结果及标准溶液的理论氧化还原电位值进行比较。如表 2 所示, 误差范围均在 $\pm 10\text{mV}$ 之间。制作电极的尖端直径约 10 μm , 响应时间 < 60s。

2.3 动态膜反硝化速率的计算

用于微型动态膜反应器进水的膜生物反应器出水 COD 浓度为 13.97 mg/L, 氨氮为 1.05 mg/L, 硝

氮为 52.4 mg/L。在此进水氨氮浓度下, 即使动态膜中能够发生硝化作用, 硝化作用产生的硝氮也非常少, 可以忽略不计。同时, 在以下的分析过程中也不考虑硝酸盐的同化吸收, 认为动态膜内部的硝酸盐浓度变化是由扩散限制及微生物的反硝化作用引起的。用葡萄糖调节进水 COD 浓度, 理论值分别为 50 mg/L, 100 mg/L 与 200 mg/L, 实测 COD 浓度为 48.45 mg/L, 99.23 mg/L 与 212.32 mg/L, 对应的实际进水 COD 负荷分别为: 0.13 kg/($\text{m}^3\cdot\text{d}$)、0.45 kg/($\text{m}^3\cdot\text{d}$)、0.92 kg/($\text{m}^3\cdot\text{d}$) 与 1.96 kg/($\text{m}^3\cdot\text{d}$)。

表 2 20℃时 3 种 ORP 标定液的测量值及理论值/mV
Table 2 Metrical and nominal values of three kinds of ORP standard solutions at 20℃/mV

氧化还原标准溶液	微电极 测量值	电极 测量值	理论值
pH 7 靛氢醌饱和溶液	92.6	88.5	92
pH 4 靛氢醌饱和溶液	259	258	268
铁氰化钾/亚铁氰化钾	228	227	231

由于种种原因, 只监测了进水负荷为 1.96 kg/($\text{m}^3\cdot\text{d}$) 时的动态膜内部 ORP 分布曲线。改变进水浓度后, 反应器运行 1~2d, 达到稳定状态, 关闭进出水进行测试。图 2 为不同进水 COD 负荷下动态膜内部的硝酸盐及 ORP 分布曲线, 将动态膜与主体溶液的交界面定为 $h = 0\text{mm}$ 。动态膜内部硝酸盐分布曲线显示, 在动态膜内部的某一段区域中, 可以用二次多项式来模拟硝酸盐浓度随膜深度的变化情况, 即:

$$c(x) = ax^2 + bx + c \tag{3}$$

且当进水负荷为 0.92 kg/($\text{m}^3\cdot\text{d}$) 与 1.96 kg/($\text{m}^3\cdot\text{d}$) 时, 动态膜中出现下降速率不同的 2 段区域, 对这 2 段区域分别进行二次多项式拟合, 采用最小二乘法进行数据拟合, 结果见表 3。

表 3 反硝化区域的数据拟合
Table 3 Data fit of the denitrification area

COD/kg·($\text{m}^3\cdot\text{d}$) ⁻¹	a	b	c	R^2
0.13	0.231 3	-1.360	5.256	0.967
0.45	0.430 0	-1.884	5.273	0.829
0.92	0.202 8	-1.167	4.257	0.963
	0.561 3	-5.139	13.92	0.952
1.96	0.651 2	-2.411	5.087	0.987
	0.243 9	-1.841	5.495	0.977

同时硝酸盐浓度随膜深度的二阶偏导数如下:

$$\partial^2 c(x, t)/\partial x^2 = 2a \tag{4}$$

根据方程(2)可以计算动态膜某深度处的反硝化速率。这种拟合方法相当于认为动态膜的反硝化

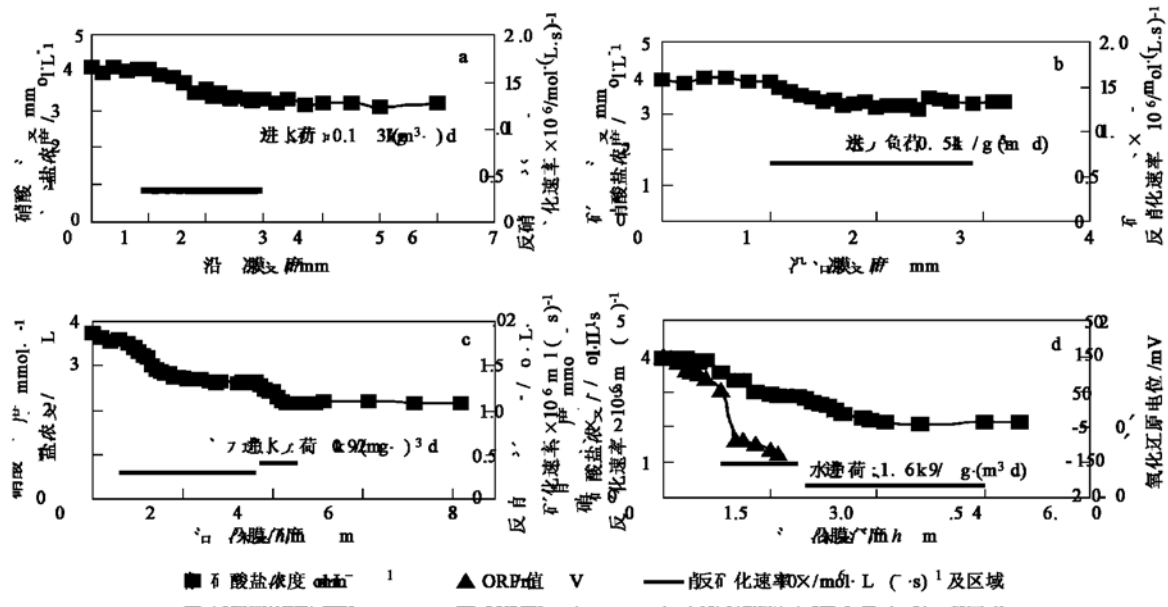


图2 不同 COD 负荷对动态膜内部硝酸盐及 ORP 分布的影响

Fig. 2 Effect of different COD loadings on the nitrate and ORP profiles in the dynamic membrane

过程是相对于硝酸盐浓度的零级反应模型。

通常,微生物的反硝化速率受到电子受体和电子供体 2 个因素的影响,可以用相互作用的 Monod 方程来表示,并增加溶解氧对反硝化速率的影响:

$$R(x) = R(x) \frac{s(x)}{K_s + s(x)} \cdot \frac{c(x)}{K_c + c(x)} \cdot \frac{K_{IO}}{K_{IO} + S_{IO}(x)} \quad (5)$$

式中, $R(x)$ 为最大反硝化速率,反映了微生物的反硝化活性, $s(x)$ 为动态膜 x 深度处的有机物浓度, $S_{IO}(x)$ 为动态膜 x 深度处的溶解氧浓度, K_s 为有机物的半饱和常数, K_c 为硝酸盐半饱和常数, K_{IO} 为溶解氧对反硝化速率的抑制因子。在微生物反应常用动力学参数中, K_c 的取值范围一般为: 0.1~0.2 mg/L, 本实验中硝酸盐浓度在 25~55 mg/L 之间, 远大于 K_c 的值, 故采用相对于硝酸盐的零级反应模型是合理的。这时, 反硝化速率主要受动态膜内微生物反硝化活性、有机物浓度及溶解氧的限制。

2.4 不同 COD 负荷对动态膜反硝化速率的影响

在进水负荷为 0.13 kg/(m³·d) 时(图 2a), 在膜水界面以下 1mm 处开始出现硝酸盐浓度随动态膜深度的抛物线下降, 在膜水界面以下 2.8mm 处, 硝酸盐浓度随膜深度几乎没有变化, 可认为反硝化作用停止。在膜深度 1~2.8mm 区域, 动态膜的反硝化速率为 $0.3414 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$ 。进水负荷升高至 0.45 kg/(m³·d) 时(图 2b), 硝酸盐浓度随膜深度的

变化同样呈抛物线下降, 反硝化的区域发生在膜水界面以下 1~2.9mm 处, 反硝化速率增大至 $0.6347 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$ 。该现象可解释为, 在进水 COD 负荷较低时, 碳源成为反硝化过程中的速率限制因素, 加大进水的碳源量, 可以提高动态膜的反硝化速率。

当进水 COD 负荷进一步增大时, 动态膜内出现反硝化速率不同的 2 个反硝化层, 且开始发生反硝化的区域离膜水界面的距离减小, 可以认为是由于溶解氧消耗的速率变快, 导致反硝化的区域向膜水界面方向迁移。进水负荷达到 0.92 kg/(m³·d) 时(图 2c), 在膜水界面以下 0.8~3.6mm 区域内, 反硝化速率为 $0.2944 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$, 在膜水界面以下 3.6~4.5mm 区域内, 反硝化速率增大为 $0.8285 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$, 采用加权平均计算的反硝化速率平均值为: $0.4243 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$ 。可以认为碳源的进一步增加, 消除了动态膜较深层的反硝化菌因碳源的限制而活性减小的现象, 且越往动态膜内部, 溶解氧浓度越低, 好氧菌对反硝化细菌的竞争能力越弱, 导致内层反硝化速率越高。当进水负荷增大至 1.96 kg/(m³·d) 时(图 2d), 越往动态膜内部, 反硝化速率变小。膜水界面以下 0.6~1.9mm 区域内, 反硝化速率为 $0.9612 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$, 1.9~4.5mm 区域内, 反硝化速率减小至 $0.36 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$, 采用加权平均计算硝化速率平均值为: $0.5604 \times 10^{-6} \text{ mol/(L·s)}$ 。同时, 在进水负荷 1.96 kg/(m³·d) 时, 动态膜内部 ORP 的分布曲线也进一

步证实:在膜水界面以下 0.6mm 至 1.9mm 之间, ORP 值的范围在 88.6~ - 128.4mV 之间,这一条件有利于反硝化的发生.虽然 COD 负荷的进一步增大[0.92 kg/(m³·d) 至 1.96 kg/(m³·d)]对反硝化速率的提高有帮助,但是动态膜内发生反硝化区域并没有大的提高,且 COD 负荷过高时,动态膜的自身增殖现象明显,这容易引起膜堵塞,从而造成膜通量的下降.

3 结论

(1) 硝酸盐微电极是研究生物膜内部反硝化过程的有力工具,尖端直径小(~ 15μm),具有较高的空间分辨率,测试过程中不会对生物膜结构造成破坏.结合 ORP 微电极的测试结果,能够定位动态膜内部反硝化的发生区域.

(2) 在不同的进水 COD 负荷下,动态膜在膜水界面 0.6~ 1.0mm 以下开始发生反硝化反应.动态膜的过膜 COD 负荷会影响动态膜的反硝化速率和区域.在进水负荷 0.13~ 1.96 kg/(m³·d) 范围内,动态膜均具有一定的反硝化活性.在进水负荷为 0.45 kg/(m³·d) 时,动态膜的反硝化速率最高,可达到 $0.6347 \times 10^{-6} \text{ mol/(L} \cdot \text{s)}$.

(3) 当增加 COD 负荷后,动态膜中形成了反硝化速率不同的 2 层,体现了有机物浓度、溶解氧的抑制作用、菌群竞争对动态膜内反硝化速率的影响. COD 负荷的提高虽然能够增大动态膜内部反硝化发生的区域,但由于好氧菌及缺氧菌的竞争作用,反硝化速率并没有得到提高.而且过高的 COD 浓度会引起动态膜中微生物的增殖,导致膜通量下降,保持进水 COD 负荷在 0.45~ 0.92 kg/(m³·d) 能够发挥动态膜较优的反硝化性能,同时又能起到良好的截留作用.

参考文献:

[1] Fan B, Huang X. Characteristics of self-forming dynamic membrane when coupled with bioreactor for domestic

wastewater treatment [J]. Environ. Sci. Tech., 2002, 36: 5245~ 5251.

- [2] 吴盈禧,陈福泰,黄霞.高通量自生动态膜生物反应器的运行特性[J].中国给水排水,2004,20(2):5~7.
- [3] 吴盈禧,蔡强,周小红,等.基于溶解氧微电极的动态膜特性的在线研究方法[J].环境科学,2005,26(2):113~117.
- [4] De Beer D. Measurement of nitrate gradients with an ion-selective microelectrode [J]. Analytica Chimica Acta, 1989, 219: 351~ 356.
- [5] Jean-Pierre R A S, De Beer D. Microelectrode measurements of nitrate gradients in the littoral and profundal sediments of a Mesotrophic lake [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1989, 55(3): 754~ 757.
- [6] Yu T. Stratification of microbial processes and redox potential changes in biofilms [D]. America: University of Cincinnati, 2000.
- [7] Li J, Bishop P L. Monitoring the influence of toxic compounds on microbial denitrifying biofilm processes [J]. Water Science and Technology, 2003, 47(5): 211~ 216.
- [8] De Beer D, Van Den Heuvel, et al. Microelectrode measurements of the activity distribution in nitrifying bacterial aggregates [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(2): 573~ 579.
- [9] Jang A, Yoon Y H, Kim I S, et al. Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor [J]. Journal of Biotechnology, 2003, 105: 71~ 82.
- [10] Laursen A E, Carlton R G. Responses to atrazine of respiration, nitrification, and denitrification in stream sediments measured with oxygen and nitrate microelectrodes [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 29: 229~ 240.
- [11] Lorenzen J, Larsen L H, Revsbech N P. Biosensor detection of the microscale distribution of nitrate, nitrate assimilation, nitrification, and denitrification in a diatom-inhabited freshwater sediment [J]. Applied Environmental Microbiology, 1998, 64: 3264~ 3269.
- [12] Pang H, Zhang T C. Fabrication of redox potential microelectrodes for studies in vegetated soils or biofilm systems [J]. Environ. Sci. Technol., 1998, 32: 3646~ 3652.
- [13] De Beer D, Schramm A, Santegoeds C M, et al. A nitrite microsensor for profiling environmental biofilms [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(3): 973~ 977.