

基于生物传感器的在线生化需氧量测量仪研究*

刘升¹ 郜洪文²

(1. 淮北师范大学计算机科学与技术学院, 淮北 235000; 2. 同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092)

摘要: 为弥补经典的五日稀释接种法(BOD_5)耗时较长,不能及时反映水质污染状况的不足,设计了基于微生物传感器的生化需氧量(BOD)在线测量仪器。BOD生物传感器是溶解氧传感器和微生物膜的结合,利用微生物膜传感器测定BOD是一种快速有效测定水中可生化降解有机物的方法。论述了BOD生物传感器的工作原理,给出了在线BOD测量仪器的整体结构,设计了连续进样系统和信号处理电路,阐述了自动标定、温度控制、数据处理和有机物浓度计算的方法。设计的在线BOD测量仪器对标准值的相对误差在 $\pm 5\%$ 以内,与经典的稀释接种法比较有良好的相关性,能够用于废水中可生化降解的有机物的快速测定和评价。

关键词: 微生物传感器 生化需氧量 有机污染物 在线监测

中图分类号: TP212.3; Q93-338 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2013)S2-0231-05

On-line Biochemical Oxygen Demand Measuring Instrument Based on Biosensor

Liu Sheng¹ Gao Hongwen²

(1. College of Computer Science and Technology, Huaibei Normal University, Huaibei 235000, China)

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

Abstract: In order to make up for the deficiency of traditional method of 5 d for dilution and seeding method (BOD_5), the on-line biochemical oxygen demand (BOD) measuring instrument based on microbial sensor was designed. BOD biosensor was the combination of dissolved oxygen electrode and microbial film. Measurement of BOD using microbial membrane sensor was a fast and effective way for measuring biodegradable organic compounds in water. The principle of BOD biosensor was discussed. Whole structure of on-line BOD measuring instrument was given. The continuous sampling system and sensor signal process circuit were designed. The methods of automatic calibration, temperature control, and data process and concentration calculation of organic compounds were expounded. The relative errors of designed BOD on-line instrument with standard samples were less than 5%, and had a better correlation with the method of dilution and seeding. The designed instrument could be used for rapid determination and evaluation of biodegradable organic compounds in wastewater.

Key words: Microbial sensor Biochemical oxygen demand Organic pollutants On-line monitoring

引言

在水质评价中,生化需氧量(Biochemical oxygen demand, BOD)是反映水体被有机物污染程度的综合指标,也是研究废水的可生化降解性和生化处理

效果,以及生化处理废水工艺设计和动力学研究中的重要参数^[1]。BOD间接地反映水中可以被生物氧化的有机物的含量^[2]。

传统的五日稀释接种法(BOD_5)操作比较繁琐,耗时较长,不能及时地对水质进行检测分析。采用

微生物传感器的 BOD 快速测定法,不需要生物培养,可直接测定,操作简单,测定单个样品的 BOD 值的时间在 15 min 以内,缩短了测量时间,适合于地表水、生活污水和工业废水的测量^[3-4]。

近年来有关 BOD 生物传感器的文献主要讨论 BOD 生物传感器的研究进展、微生物膜的菌种选择和实验方法、微生物膜的性能,以及在水环境监测中的应用等,研究的热点主要集中于微生物膜的研制^[5-9]。本文设计应用微生物传感器的 BOD 在线测量仪器,以期实现仪器的自动标定、自动进样和自动测量等功能。

1 BOD 生物传感器原理和信号处理电路

1.1 BOD 生物传感器的工作原理

普通的 BOD 生物传感器由溶解氧电极和紧贴其透气膜表面的微生物膜组成,微生物传感器表面是渗透膜,含溶解氧的标准溶液和待测样品的混合液可以通过传感器表面的渗透薄膜进入生物膜层,生物膜层和溶解氧电极之间由一层聚四氟乙烯材料组成的渗透膜隔开,生物膜层内剩余的溶解氧可以通过该渗透膜被溶解氧电极检测到。

溶解氧电极一般使用隔膜极谱式溶解氧电极,电极顶部使用溶解氧透过率高的聚四氟乙烯隔膜和微生物膜贴在一起,阴极为铂、金等贵金属,几乎与隔膜直接接触,阳极为 Ag/AgCl 电极,电极内充有 0.1 mol/L 的 KCl 溶液或者其他中介液。

BOD 生物传感器的工作原理:生物传感器置于恒温水浴中,温度恒定的含有饱和溶解氧的缓存溶液通过多孔渗透膜进入生物膜层,一部分溶解氧被生物膜层内的微生物消耗掉,剩余的溶解氧通过透气的聚四氟乙烯薄膜被溶解氧电极检测到。此时生物膜中的微生物处于内源呼吸状态,溶液中的氧通过微生物的扩散作用与内源呼吸耗氧达到平衡,传感器输出一个恒定电流 I_0 ;当加入待测样品后,有机物通过渗透膜渗透到微生物层后被微生物氧化和吸收,微生物由内源呼吸转入外源呼吸,呼吸活性增强,导致扩散到传感器的氧减少,使输出的电流减少,几分钟后达到一个新的平衡状态。此时溶解氧电极输出一个恒定电流 I_1 ,至此测量结束。然后重新加入缓存溶液清洗传感器,直到传感器输出电流为 I_0 。两次平衡态下的电流之差 $\Delta I = I_1 - I_0$ 表示此次样品对应的电流。该方法完成一次测量之后传感器需要几十分钟的恢复时间,然后才能进行下一次测量。还可以采用加入样品后通过测量传感器输出电流的变化速率 ($\Delta I/\Delta t$) 来代替传感器的响应过程,该参数反映的是微生物呼吸变化的加速度,该方

法两次测量之间的恢复时间小于 10 min。在一定条件下,传感器输出电流差 ΔI 或者输出的电流的变化速率 $\Delta I/\Delta t$ 与 BOD 浓度呈线性关系。

近年来国外已开发出各种各样的针对各种水质的微生物膜传感器,国内也有一批学者进行不断地研究和探索^[10]。不同的生物传感器由于使用的细菌或者真菌的不同,传感器的响应时间和恢复时间等参数都不相同,设计仪器要根据使用的生物传感器的参数设计测量时的工作环境。关于微生物传感器使用的微生物菌膜的种类,微生物膜的保存方法和保存温度,以及工作的温度范围和测量的线性范围等可参考有关文献和使用说明。

1.2 传感器信号处理电路

BOD 生物传感器一般由微生物膜和极谱式溶解氧电极组成,信号处理电路就是极谱式溶解氧电极的信号处理电路,电极测量时需要在阳极和阴极间加上 0.7 V 左右的极化电压,生物膜中剩余的溶解氧通过薄膜在阴极上还原,产生该温度下与氧浓度呈正比的还原电流,因此在一定条件下测得还原电流,就可以求出生物膜中剩余的溶解氧浓度。该电流一般在 600 nA 以内,电极内阻一般数百千欧。信号处理电路如图 1 所示。

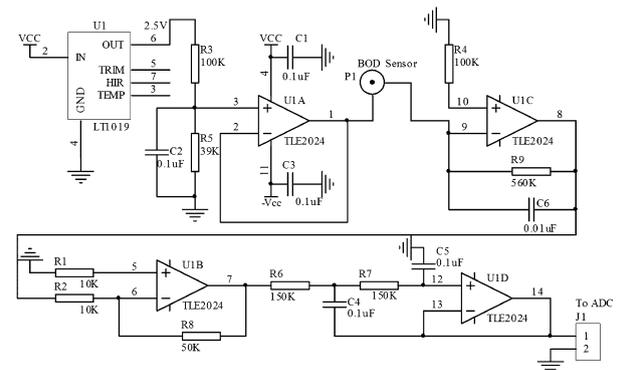


图 1 BOD 生物传感器信号处理电路

Fig. 1 Signal process circuit of BOD biosensor

图 1 中,LT1019 产生 2.5 V 基准电压,经分压后得到 0.7 V 电压通过 U1A 跟随后加到溶解氧电极的阳极,极化电流通过 U1C 组成的 $I-V$ 电路转换为电压,该电压经过 U1B 进一步放大,再通过 U1D 组成的低通滤波器滤波后送给数据采集电路。

溶解氧电极中还有一种隔膜电池式溶解氧电极,电极无需极化电压,电极输出的是电压信号,电压范围约 0 ~ 30 mV。电极内阻约几十千欧。该类型的电极前置电路设计较简单,只需将电极输出信号放大,再低通滤波后即可。

2 在线 BOD 测量仪器结构和工作原理

生物传感器法在线 BOD 测量仪器结构如图 2

所示,系统由流通池、恒温系统、微生物电极、进样控制单元、数据采集和处理系统等组成。微生物传感器、混合池和缓冲溶液暂存池放在恒温的水浴中,保证测量时微生物传感器、待测样品和缓存溶液都在恒定的温度下。温度对微生物的活性影响很大,保持恒定的温度才能保持微生物菌膜恒定的生物活性和测量的稳定性,循环泵的作用是加速池内水的循环。进样控制系统主要由蠕动泵、电磁阀和相应的控制板组成,主要完成缓冲液、样品和标准溶液的自

动进样。样品和缓冲液从不同的管道流入,缓冲液是提供给微生物的营养液,用于保持微生物膜的活性,每次标定或者测量时,缓冲液和标准溶液或者样品同时作用于微生物膜。两个气泵分别向混合池和缓存溶液池鼓入空气,实现在一定温度下缓冲液和混合液中溶解氧的含量饱和。微生物传感器输出的电流信号经信号处理电路完成 $I-V$ 转换并放大滤波后,送给采集系统完成 A/D 转换,最后经 USB 总线送给上位机完成数据处理和数据显示等功能。

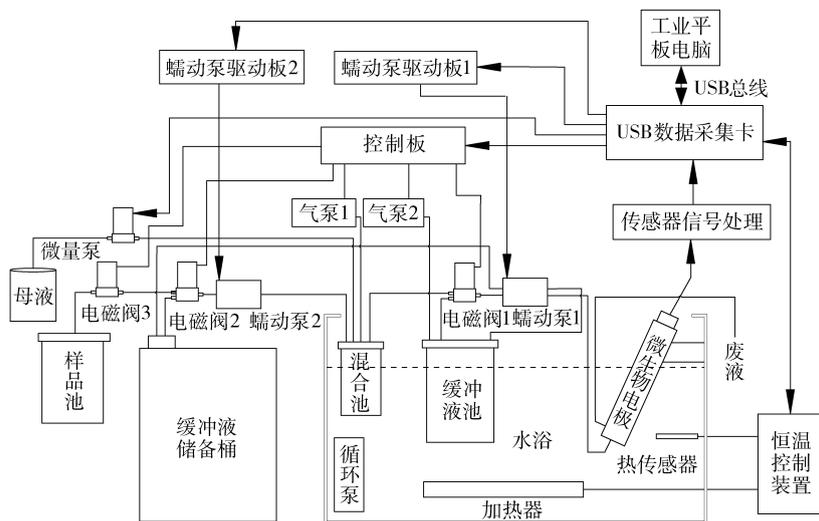


图 2 在线 BOD 测量仪器结构图

Fig. 2 Structure of on-line BOD measuring instrument

标定用的标准溶液配制由系统自动完成,图 2 中的母液通过微量泵送入混合池,缓存液通过蠕动泵进入混合池,微量泵和蠕动泵在系统的控制下实现不同浓度的标准溶液的配制,满足不同量程传感器标定的需要。

3 BOD 在线测量仪器设计的关键技术

3.1 自动标定的实现

微生物传感器法 BOD 仪器标定用的标准溶液配制如下:将 Na_2HPO_4 和 KH_2PO_4 各 0.005 mol 配成缓冲液,该缓冲液也是传感器标定用的零点;将葡萄糖和谷氨酸各 0.15 g 加到 100 mL 水中,其 BOD 值为 2 200 mg/L,这就是图 2 中的母液,再用上面的缓冲液稀释到合适浓度作为传感器标定斜率点的标准溶液,具体浓度要根据使用的传感器量程决定。

仪器标定过程是完全在软件控制下自动完成的,通过控制蠕动泵、电磁阀完成缓存液和标准溶液的自动进样和清洗工作,软件系统通过两点数据(标定零点的数据和标定量程点的数据)计算得到 k 和 b 并储存^[11],计算方法为

$$k = \frac{C_2 - C_1}{R_2 - R_1}$$

$$b = C_1 - kR_1$$

式中 C_1 ——标定零点的浓度
 R_1 ——标定零点反应度
 C_2 ——标定斜率点的浓度
 R_2 ——标定斜率点反应度

测量时,利用 $C_1 = kR_1 + b$ 得到被测样品 BOD 值。

预期的 BOD 质量浓度范围,河水 2 ~ 30 mg/L,净化过的污水为 4 ~ 60 mg/L,原始污水或者轻度污染的工业废水为 40 ~ 2 000 mg/L,严重污染的工业废水 400 ~ 6 000 mg/L。不同传感器的测量范围不同,本仪器设计的目的是监控河水或者净化过的污水的 BOD 值,测量范围为 0 ~ 60 mg/L。

3.2 温控系统和进样系统

微生物膜传感器必须在恒温下工作,才能维持微生物的生物活性,设计的在线 BOD 测量仪器采用水浴恒温加热方式,微生物传感器在一定的温度范围都能稳定地工作,但不同温度下工作要重新进行标定,设定的温度要高于当前的环境温度,才能保证温控效果。

温度控制由温控板和加热器组成,系统通过数据采集卡实现对温控板的控制。采集卡的 D/A 的一个通道用于设定水浴的温度,采集卡的一个 A/D

通道读取水浴的温度。温控板的单片机系统实现温度控制,温度控制采用传统的PID控制算法,加热驱动采用高速固态继电器控制,通过改变定时单元的加热量实现温度控制,就是设定一个定时长度,例如100 ms,在这个定时长度内,分成加热时间和停止加热时间,通过不停改变加热时间来实现温控,而这个改变量是通过PID算法获得的。

进样系统主要功能是将标准溶液、被测样品和缓冲溶液分别送入微生物传感器中,实现标定、测量和清洗功能。控制原理和结构见图2。这些功能是通过软件控制蠕动泵、电磁阀和微量泵实现的,控制信号来自数据采集卡的数字输出端口。蠕动泵的驱动板和电磁阀、空气泵的控制板分开设计,有利于简化仪器的安装。微量泵在系统的控制下用于将母液和缓冲液混合,配置成不同浓度的标准溶液。

3.3 数据采集和数据处理

数据采集由USB接口的数据采集卡完成,采集卡A/D需16位以上,以提高测量精度。BOD微生物传感器的输出信号变化缓慢,不需要使用高速数据采集卡,采样速率在100 Hz以上都能满足要求。

软件系统采用Visual C++开发平台,主机使用工业平板计算机,带触摸输入。由于计算机工作在一个单CPU多任务的环境中,系统使用子线程跟踪A/D转换进度和控制采样过程。USB设备不使用动态指针去同步A/D转换进度,完全由硬件和驱动程序自动完成,软件实现就显得极为容易。用于跟踪A/D转换进度和实现采样控制的子线程必须是绝对的工作者线程,线程采集到的数据保存到一个足够大的缓存数组中,另外开辟一个线程用于处理数据和显示,对数据进行处理,显示测量结果和系统的各种状态。

设计的在线仪器用于监测污水和河水,若监测水样中含有对微生物有毒害的物质或者微生物难以氧化的大分子物质,如重金属离子等毒害微生物的物质,则水样就要先进行预处理^[12-13]。但对水样的BOD值已超过仪器的检测范围,可以不进行稀释处理,因为在线仪器检测水样的目的是监控水样的BOD值是否超标,过高BOD的水样仪器会报警,表示水样BOD已严重超标。此时用经典的BOD测量方法对水样进行精确测定。

4 主要技术指标和测试结果

4.1 主要技术指标

BOD测量质量浓度范围:0~60 mg/L。仪器量程由所使用的传感器决定,仪器在软件设计和标定上兼容多种类型传感器,如自动的标准溶液配制,量

程的自动设定等。仪器测试用的传感器的微生物膜的菌种是皮状丝孢酵母,测量时间是10 min,生物膜保存温度是4℃,工作温度设定为34℃,使用寿命2个月以上。

测量准确度:对标准溶液的测量误差为小于±5%,和BOD₅的一致性较好,但测量值小于BOD₅的测量值,偏差在10%左右。

标定方式:两点标定,系统自动完成标准溶液进样,自动标定。

进样方式:蠕动泵连续进样。

温度控制:温控设定范围20~45℃,温控误差小于±0.5℃,传感器的加热采用水浴方式。软件界面实时显示传感器的温度,并具有温度异常报警功能。

传感器测量时间设定范围:6~40 min。

传感器恢复时间设定范围:30~90 min。

4.2 仪器测试

仪器对标准样品的测试按照国标要求进行,对标准样品的测试是连续测量11次求平均值,然后求相对标准偏差。表1为仪器对标准样品的测量结果。表2是对几种典型水样的测量结果并和经典的BOD₅的结果比较。水样取自淮北市环保局抽检的样品,包括处理过的工业废水、地表水和生活污水。从实验数据中可以看到,使用生物传感器的仪器的测量值小于BOD₅的测量值,偏差在10%左右,这是因为河水和污水中,有些物质的微生物分解需要较长的时间。

表1 BOD仪器对标准样品的测量结果

Tab.1 Measuring results of standard sample with BOD instrument

标准样品 /mg·L ⁻¹	仪器11次的 平均值/mg·L ⁻¹	相对 偏差/%
5.5	5.43	1.27
11	10.48	4.73
22	22.46	-3.91
44	44.86	-1.95

表2 实际水样的BOD仪器测量和BOD₅的对比结果

Tab.2 Comparison results of actual sample between BOD₅ and BOD instrument

水样来源	结果比较/mg·L ⁻¹		相对偏差 /%	
	BOD仪器	BOD ₅		
地表水	DBS12051307	2.56	2.9	11.7
	DBS12051309	1.61	1.8	10.5
	DBS12051401	4.31	4.8	10.2
生活污水	WS12051301	15.9	17.2	7.6
	WS12051303	10.8	12.4	10.7
处理后的	FS12051301	39.3	42.2	6.9
工业废水	FS12051302	21.3	22.2	4.5

5 结束语

研究了基于微生物传感器的 BOD 在线测量仪器的设计。使用生物传感器的在线 BOD 测量仪器能够快速检测水中可生化降解的有机物的含量,而

且操作简单。特别是采用微生物传感器 BOD 在线测量仪器,自动化程度高,能够在线监测和远程控制,能够实时监测污水和工业废水的排放,适合环保部门的环境监测站使用。

参 考 文 献

- 1 奚旦立,孙裕生,刘秀英. 环境监测[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2005.
- 2 朱杏冬,涂金珠,崔绍荣,等. 养殖水中总有机碳与化学需氧量和生化需氧量相关性的研究[J]. 农业工程学报, 1999, 15(3):196~198.
Zhu Xingdong, Tu Jinzhu, Cui Shaorong, et al. Study on the correlation of total organic carbon with chemical oxygen demand and biochemical oxygen demand in water[J]. Transactions of the CSAE, 1999, 15(3):196~198. (in Chinese)
- 3 Paixao S M, Santos P, Tenreiro R. Performance evaluation of mixed and pure microbial inocula as surrogate strain in a BOD₅ test [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2003, 19(5): 539~544.
- 4 Catterall K, Morris K, Gladman C, et al. The use of microorganisms with broad range substrate utilisation for the ferricyanide-mediated rapid determination of biochemical oxygen demand [J]. Talanta, 2001, 55(6): 1 187~1 194.
- 5 Wang J, Zhang Y, Wang Y, et al. An innovative reactor-type biosensor for BOD rapid measurement [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2010, 25(7):1 705~1 709.
- 6 Chan C, Lehmann M, Chan K, et al. Designing an amperometric thick-film microbial BOD sensor [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2000, 15(7~8): 343~353.
- 7 Chee G J, Nomura Y, Ikebukuro K, et al. Development of photocatalytic biosensor for the evaluation of biochemical oxygen demand[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2005, 21(1): 67~73.
- 8 Liu J, Olsson G, Mattiasson B. Short-term BOD (BOD_{st}) as a parameter for on-line monitoring of biological treatment process: part II: instrumentation of integrated flow injection analysis (FIA) system for BOD_{st} estimation [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 20(3):571~578.
- 9 Pasco N, Baronian K, Jeffries C, et al. MICREDOX-development of a ferricyanide-mediated rapid biochemical oxygen demand method using an immobilised proteus vulgaris biocomponent [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 20(3): 524~532.
- 10 叶裕才,王建龙,普利锋. 生物传感器快速测定生化需氧量的研究[J]. 分析化学, 2005, 33(3):405~410.
Ye Yucai, Wang Jianlong, Pu Lifeng. Bio sensors for rapid estimation of biochemical oxygen demand[J]. Chinese J. Anal. Chem., 2005, 33(3):405~410. (in Chinese)
- 11 刘升,郜洪文. 电极法智能氨氮测量仪器设计[J]. 计算机与应用化学, 2010, 27(5):587~590.
Liu Sheng, Gao Hongwen. Design of intelligent ammonia nitrogen determination instrument based on electrode[J]. Computers and Applied Chemistry, 2010, 27(5):587~590. (in Chinese)
- 12 Mittal S K, Ratra R K. Toxic effect of metal ions on biochemical oxygen demand[J]. Water Research, 2000, 34(1): 147~152.
- 13 Qian Z, Tan T C. BOD measurement in the presence of heavy metal ions using a thermally-killed-Bacillus subtilis biosensor [J]. Water Research, 1999, 33 (13): 2 923~2 928.

(上接第 240 页)

- 6 张恺,张玉钧,殷高方,等. 综合散射法与透射法测量水浊度的研究[J]. 大气与环境光学学报, 2011, 6(2): 100~105.
Zhang Kai, Zhang Yujun, Yin Gaofang, et al. Measurement of water turbidity combined with scattering and transmission method [J]. Journal of Atmospheric and Environmental Optics, 2011, 6(2): 100~105. (in Chinese)
- 7 张锂,韩国才. 新型柱积分在线智能浊度仪的研究与性能测试[J]. 仪器仪表学报, 2006, 27(8): 916~919.
Zhang Li, Han Guocai. Research and function test of a new-type column integrating on-line intelligent turbidimeter[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2006, 27(8): 916~919. (in Chinese)
- 8 岳舜琳,陈国光,童俊,等. 低浊水的浊度测定问题[J]. 净水技术, 2010, 29(3): 48~53.
Yue Shunlin, Chen Guoguang, Tong Jun, et al. Measurement of the turbidity of water with low turbidity[J]. Water Purification Technology, 2010, 29(3): 48~53. (in Chinese)
- 9 李民赞. 光谱分析技术及其应用[M]. 北京:科学出版社, 2006.
- 10 白金纬,张德源,刘畅. 浊度仪中两种不同光源对浊度测量的影响研究[J]. 光学仪器, 2008, 30(2): 1~3.
Bai Jinwei, Zhang Deyuan, Liu Chang. Research of turbidity measuring influence caused by two different light source[J]. Optical Instruments, 2008, 30(2): 1~3. (in Chinese)
- 11 康亚,杨懿,潘英俊. 基于单片机的智能浊度仪[J]. 四川兵工学报, 2009, 30(1): 115~117.