

生活污水人工渠自净过程及原生动物演替

赵阳国^{1,2}, 任南琪¹, 王爱杰¹

(1. 哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 哈尔滨 150090, E-mail: sunshine_zhao@yahoo.com.cn;

2. 中国海洋大学 环境科学与工程学院, 山东 青岛 266100)

摘要: 为探讨小城镇生活污水人工渠自净的可行性及原生动物的响应过程, 采用传统的生化分析方法并结合最新的基因指纹技术, 对哈尔滨双城市居民生活污水水体自净过程中的水质变化以及相应的指示性原生动物的动态演替进行分析。结果表明, 化学需氧量 (COD) 为 140 mg/L 的生活污水, 经由约 9 km 的人工渠, 通过沉降、化学分解、生物代谢等作用, 降至 40 mg/L 以下, 碱度逐渐从 1000 mg/L 下降至 250 mg/L, pH 从 7.3 上升至 8.0; 总磷含量由 2.0 mg/L 逐渐降低至 1.3 mg/L。在整个过程中的原生动物种类较少, 主要有草履虫属、四膜虫属和鞭毛虫属。鞭毛虫属一直是优势原生动动物, 草履虫属和四膜虫属在寡污带出现, 最后消失。居民生活污水在人工渠中通过较长的自净流程 (9 km) 达到排放的要求, 注入松花江支流拉林河。

关键词: 生活污水; 水体自净; 单链构象多态性 (SSCP); 原生动物

中图分类号: X522; Q938 **文献标识码:** A **文章编号:** 0367-6234(2008)06-0870-04

Self-purification of domestic sewage and succession of dominant protozoa in a man-made ditch

ZHAO Yang-guo^{1,2}, REN Nan-qi¹, WANG Ai-jie¹

(1. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China, E-mail: sunshine_zhao@yahoo.com.cn; 2. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: To investigate the feasibility of self-purification of domestic sewage in man-made ditches and the corresponding succession of dominant protozoa, conventional chemical analysis combined with single-strand conformation polymorphism (SSCP) technique was used to monitor the change of water quality during self-purification of domestic sewage and the protozoa succession. The results indicated that the chemical oxygen demand (COD) in domestic sewage was decreased from 140 to 40 mg/L through deposition, chemical decomposition and bio-metabolism after the sewage passed through a 9 km man-made ditch. The alkalinity was reduced from 1000 to 250 mg/L, but the pH increased from 7.0 to 8.0. Total content of phosphorus was decreased from 2.0 to 1.3 mg/L. The diversity of protozoa was low, including three genera: *Spumella*, *Tetrahymena* and *Paramecium*. *Spumella* was the continuously dominant genus, while *Tetrahymena* and *Paramecium* appeared in low-polluted water and disappeared finally. This research suggests that domestic sewage can reach the National Drainage Standard of China by self-purifying in a certain long ditch (up to 9 km), and pours into one of the main branches of Songhua River.

Key words: domestic sewage; self-purification of water; single-strand conformation polymorphism (SSCP); protozoa

收稿日期: 2006-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (50208006)

作者简介: 赵阳国 (1975—), 男, 博士研究生;

任南琪 (1959—), 男, 特聘教授, 博士生导师。

污染物排入江河或其他水域后, 经过扩散、稀释、沉淀、氧化、微生物的分解等作用, 使水体可基本上或完全恢复到原来的状态, 这个过程即为水体自净^[1,2]。水体的自净能力是有限的, 如果排入

水体的污染物数量超过某一界限时,将造成水体的永久性污染.在水体承受范围之内,通过自净处理,小城镇的生活污水可以得到较好的净化,然后再排入大的河流,从而减小面源污染.然而,生活污水注入人工渠后的自我恢复过程鲜有报道,尤其是对不同阶段的指示性原生动物研究还不太深入^[3],原生动物在废水处理过程中也担当相当重要的角色,如它能够分泌粘性物质提高了污泥的沉降性,还可以吞噬掉大量的衰亡细菌,减少了排泥量,使水质澄清^[4].

本研究采用传统的生化分析方法结合对原生动物 18S rRNA 基因片段的单链构象多态性 (SSCP) 分析技术,对城市生活污水水体自净过程中的水质变化模型以及相应的指示性原生动物的动态进行了解析,揭示了在水体自净过程中指示性原生动物的变化,这将对小城市生活污水的生物处理提供有益的参考.

1 材料与方 法

1.1 取样地点的描述

双城市位于北纬 45.35°,东经 126.28°,在哈尔滨西南约 50 km,是黑龙江省通过公路、铁路与中国内地相联系的主要通道.该城市约有人口 18 万,日耗水量 20000 m³,另外还有一个乳品厂和酿酒厂,排水性质属于生活污水.所有废水集中于一个排污口,水流量约 0.23 m³/s,水质暗黑,并伴有臭味.小河通过人工渠曲折而流,经主要城镇兰陵镇后注入松花江支流拉林河中.取样于早秋时节进行,气温在 25~30℃,水温 18~20℃.取样点如图 1 所示,自双城排污口起,每隔 1500 m 取一水样,当流至兰陵镇(约 20 km)时,水流已足够清澈,共取 12 样品,标号 A~L,水样保存于 4℃,用于水质分析及 DNA 提取.

1.2 样品的物理化学分析

直接观察样品色度的变化,并采用亚甲基兰染色,通过显微摄影(Olympus BH2, Olympus, Japan)对样品中的微生物进行多样性和形态分析.根据文献[5]方法,对不同样品的 pH(pH 计, Delta320,梅特勒-托利多)、碱度(pH 滴定法)、化学需氧量(COD,重铬酸钾氧化法)、总磷(氯化亚锡还原钼蓝法)和水样浊度(OD₆₀₀,722 紫外可见分光光度计)进行了测定.

1.3 SSCP 研究原生动物的变化

根据说明书,采用试剂盒(上海华舜)提取样

品总 DNA.原生动物 18S rRNA 基因 V8~V9 区的通用引物 NS7(5'-ATAACAGGCTCTGTGATGC-3')和 NS8(GCAGGTTACCTACGGA)^[6],能够扩增出约 340 bp 序列,NS8 的 5' 端采用磷酸标记,用于核酸外切酶的识别和去除. PCR 扩增(2700, Applied Biosystems)采用 100 μL 反应体系,包括:10 μL 10×buffer,引物各 0.6 μmol/L, dNTP 200 μmol/L, Taq DNA 聚合酶 2.5 U(宝生物,大连),模板 0.05~1 μg 反应程序为:94℃ 变性 40 s, 50℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 40 s,共 30 个循环.取 3 μL 于 1% 的琼脂糖凝胶上电泳,并与 PCR marker(DL2000,宝生物)比较确定质量浓度.剩余 PCR 产物采用核酸外切酶(NEB, USA)进行处理,并最终溶解于 20 μL 无菌水中.采用 12% 的聚丙烯酰胺电泳分离纯化的单链 DNA 产物 10 μL.电泳结束后,按文献[7]的方法进行银染,对 SSCP 图谱中的部分条带进行回收及测序分析,将所得序列用 Blast 软件^[8]在 GenBank 中进行检索,获取相近序列.

2 结果与讨论

2.1 水体自净过程中水质的物理化学特性

镜检发现,样品 A、B、C、D 中除出现了常见的杆菌、球菌外,还有八叠球菌、细长的真菌等,而其他取样点的细菌种类和数量较少.刚刚排放的生活污水为典型的多污性水体(polysaprobic zone),COD 和游离氨质量浓度较高,水中溶解氧很少,多数生物无法生存,而此时的厌氧或兼性厌氧的微生物代谢活跃,种类丰富.自采样点 A 便出现了绿色的藻类,以颤藻为多,颤藻类在微厌氧的水体中仍能正常生活,成为受有机物污染十分严重的水体的优势种^[9].美国学者提出以单位面积颤藻的数量作为评价水体污染的指标,颤藻数量愈多,表示水体污染愈严重^[9].自采样点 I 之后衣藻大量出现,衣藻类主要通过光合作用营自养生长,可见此时水质已经开始变清,水中有机质明显下降,在生活污水水体自净过程中,衣藻类的出现是水质逐渐转好的一个标志.

水体自净过程中的 COD、总磷、pH、碱度以及浊度的变化如图 2 所示.随着水体不断向前推移,COD 由 138 mg/L 慢慢下降到 30 mg/L 左右,总磷由 2.0 mg/L 下降至 1.3 mg/L.这些变化的主要原因是,其一,自点 F 开始又有新的溪水注入,河面逐渐宽阔,流速趋于缓和,大量有机和无机颗

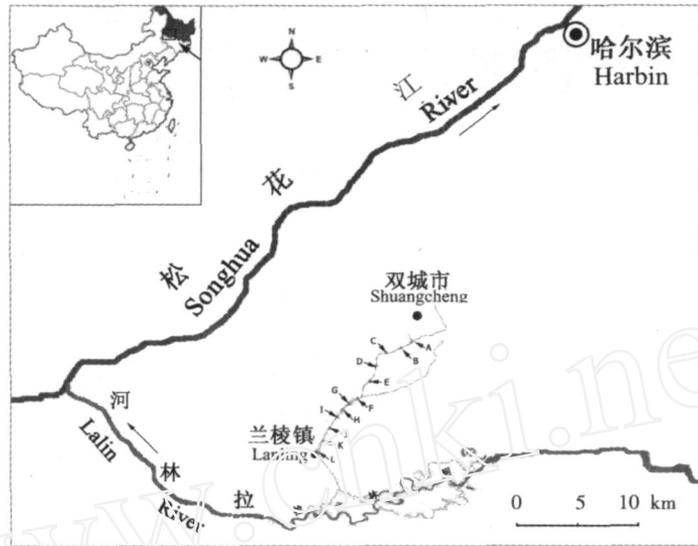


图 1 研究对象及样品采集位置

颗粒物不断沉淀下来,降低了水的浊度和 COD 质量浓度;其二,部分有机颗粒被微生物不断降解,降解的产物被沿途的植物吸收利用,沿途自 F 可见植物的数量和种类逐渐增加,水质的色度以及味觉慢慢转好.在此期间污水通过微生物的降解,有机大分子有机物转化为小分子物质,一部分用于自身代谢合成,大部分被植物直接吸收,磷的含量逐渐降低也证明了这一点.

既消耗了有机碱度(如弱酸盐)和无机碱度(如 CO_3^{2-} 和 HCO_3^-),又消耗了一些弱的有机酸,从而使 COD 总体下降,碱度也随之下降.

从图 2 还可见,在取样点 G 处,即经过 9 km 时,其 COD 质量浓度便已降低至 40 mg/L 以下,已经达到《污水综合排放标准 GB 8978 - 1996》的一级标准,总磷虽然下降较小,但也已达到二级排放标准.由此可知,对于这样一个没有污水处理设施的小城镇,完全可能采用人工渠的水体自净方式,达到污染物的去除,达标排放需要水体经过至少 9 km 的流程.

当然,采用这样的处理方式还要受到季节、地域以及生活污水水质、水量的影响,所以,在实际操作过程中,还要考虑到该模型的限制性.

2.2 原生动物演替过程

DNA 的提取表明,自 A 至 L DNA 的降解逐渐减小(图未给出),片段均在 23 kb 以上.采用引物 NS7/NS8 进行扩增均得到了 300 bp 以上的 PCR 产物.原生动物的 SSCP 结果如图 3,最多出现 11 条带,但带型图谱变异不大,总的变化趋势是群落先趋于复杂,再变得简单.各条带回收后,克隆测序的结果见表 1.根据回收条带的测序比对分析发现,鞭毛虫属的原生动物一直处于优势地位(图 3 中条带 4,5),草履虫属和四膜虫属在寡污带出现,最后消失.还可见,与同一种微生物相似性最大的条带,在 SSCP 图谱中对应 2~3 条,这主要是由于这几条带中部分碱基不同引起的.在水体自净过程中,原生动物没有明显的演替现象.有研究表明,在废水处理反应器中,原生动物的出现存在明显的顺序性:开始时是鞭毛虫,几天后是自由游泳的纤毛虫(草履虫、尾丝虫等),

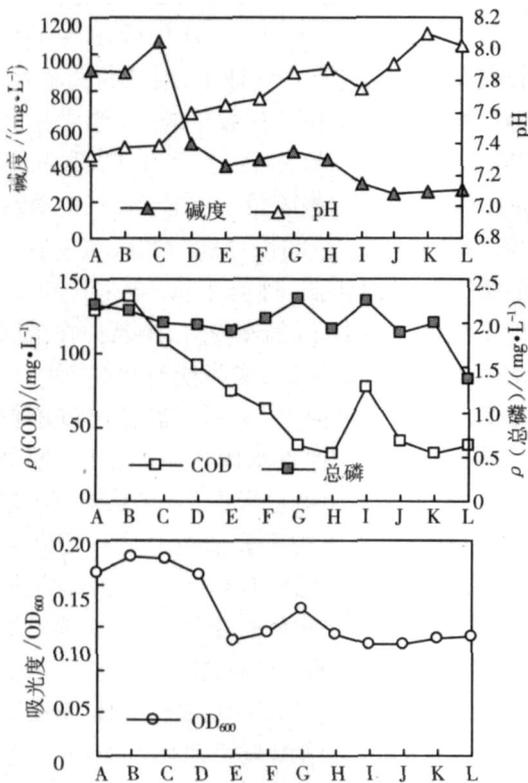


图 2 水体自净过程中的水质分析指标

从图 2 可见,碱度由 1000 mg/L 下降至 250 mg/L 左右,而此时 pH 却不断由 7.3 上升至 8.0.说明水中污染物在逐渐被微生物降解过程中

数周后是爬行的纤毛虫占优势;鞭毛虫和草履虫易生于中污至清洁水体中,四膜虫则较适应多污水体的环境^[10]。而在本研究中,四膜虫属在多污

带出现(图 3, A 和 B 泳道中 2, 3),之后又在寡污带(图 3, H, I 和 J 泳道中 2, 3)出现而后消失,与报道不同。

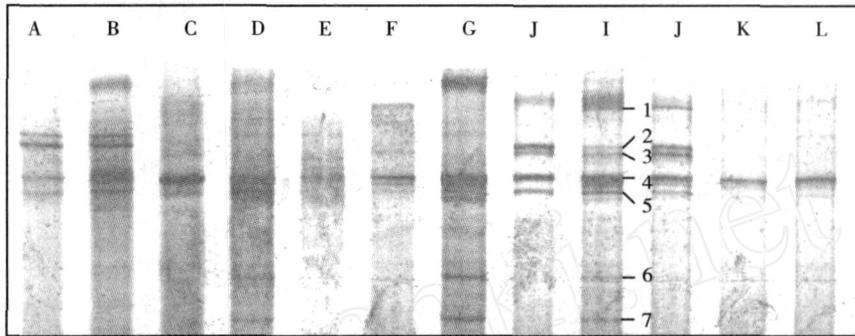


图 3 水体自净过程不同阶段的原生动物 SSCP 分析图谱

表 1 SSCP 条带克隆测序及比对分析

条带	克隆数量	序列长度 /bp	最相似微生物及 GenBank 登录号	最相似的属	相似性 /%
1	3	363	<i>Paramecium multimicronucleatum</i> , AF255361	草履虫属	99.1
2	2	350	<i>Tetrahymena</i> M26358	四膜虫属	99.1
3	2	349	<i>Tetrahymena</i> M26358	四膜虫属	99.1
4	2	364	<i>Spumella</i> - like flagellate JBC07, AY651097	鞭毛虫属	96.7
5	2	363	<i>Spumella</i> - like flagellate JBC07, AY651097	鞭毛虫属	94.8
6	2	362	<i>Paramecium multimicronucleatum</i> , AF255361	草履虫属	99.4
7	2	362	<i>Paramecium multimicronucleatum</i> , AF255361	草履虫属	99.7

3 结 论

1) 采用人工水渠的水体自净方式处理小城镇的生活污水,达到了废水排放的国家标准。

2) 在早秋温度为 18~20 条件下,当人工水渠长度 9 km 时,即可将 COD 质量浓度降低至 40 mg/L 以下,达到国家一级排放标准;总磷最终下降至 1.3 mg/L,也已达到二级排放标准。可见,该城镇的生活污水经过人工水渠的水体自净,达标后排入松花江的支流拉林河中。

3) 该水体中的原生动物的种类较少,主要有草履虫属、四膜虫属和鞭毛虫属,鞭毛虫属是一直处于优势地位的原生动物,其他两属在寡污带出现,继而消亡,没有出现明显的演替现象。

参考文献:

- [1] 杨健,施鼎方. 城镇污水处理绿色技术及其进展 [J]. 环境污染与防治, 2001, 19(2): 20 - 22
- [2] 汤崇铭,李康龄,王守良. 水体自净化是治理滇池的希望 [J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2001, 21(4): 66 - 69.
- [3] 李探微,彭永臻,朱晓. 活性污泥中原生动物的特征和作用 [J]. 给水排水, 2001, 27(4): 33 - 36
- [4] CURDS C R. The role of protozoa in the activated - sludge process [J]. Am Zool, 1973, 13(1): 161 - 169.
- [5] 时红,孙新忠,范建华,等. 水质分析方法与技术 [M]. 北京:地震出版社, 2001.
- [6] PETERS S, KOSCHINSKY S, SCHWIEGER F, et al. Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR - SSCP - based genetic profiles of small subunit rRNA genes [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 930 - 936
- [7] BASSAM B J, CAETANO - ANOLLES G, GRESSHOFF P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels [J]. Anal Biochem, 1991, 196: 80 - 83.
- [8] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHAFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI - BLAST: A new generation of protein database search programs [J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25: 3389 - 3402
- [9] 王士达,蒋志学. 中国大百科全书 - 水污染指示生物 [M]. 北京:中国大百科全书出版社, 1983.
- [10] 顾福康. 原生动物学概论 [M]. 北京:高等教育出版社, 1991.

(编辑 刘 彤)