安宇晨,张 冰,樊佳炜,等.静态产氧光颗粒的快速形成过程及自凝聚机理 [J]. 中国环境科学, 2025,45(7):3714-3723.
An Y C, Zhang B, Fan J W, et al. Unveiling the mechanism for the rapid development of hydrostatically oxygenic photogranules [J]. China Environmental Science, 2025,45(7):3714-3723.

静态产氧光颗粒的快速形成过程及自凝聚机理

安宇晨,张 冰,樊佳炜,时文歆* (重庆大学环境与生态学院,三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400045)

摘要：为强化静态产氧光颗粒(HSP)的快速稳定形成,通过在 HSP 培养初期接种颤藻 *Oscillatoria* sp.(一种典型丝状蓝藻)得出了一种强化 HSP 快速高效造粒的新方法;研究 HSP 的形成过程、形态特征、胞外聚合物(EPS)分泌、表面热力学特性以及微生物群落结构,分析该丝状蓝藻强化 HSP 造粒机理.研究表明,添加颤藻培养组的污泥生物量(2.17g/L)大于未添加颤藻培养组(2.03g/L),且颗粒表面形态更加光滑.在第 30d,添加颤藻培养组中 PN/PS 为 2.01,高于未添加颤藻培养组(1.45),表明污泥表面疏水性得到提高.此外,表面热力学分析结果表明接种颤藻培养组具有更强的界面自由能,其势能能垒(2616.75*kT*)低于未接种颤藻培养组(5037.85*kT*).经颤藻强化后,HSP 中的 EPS 产生菌得到富集,与 EPS 分泌相关的功能酶相对丰度提高了 8%~156%.在 HSP 培养初期接种丝状蓝藻(颤藻)促进了污泥中微生物与藻类附着生长与相互聚集,有效强化了 HSP 的快速稳定形成.

关键词：菌藻共生；强化策略；形成机理；亲疏水性；XDLVO 理论
中图分类号：X703.1 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)07-3714-10

Unveiling the mechanism for the rapid development of hydrostatically oxygenic photogranules. AN Yu-chen, ZHANG Bing, FAN Jia-wei, SHI Wen-xin* (Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing 400045, China). *China Environmental Science*, 2025,45(7)：3714~3723

Abstract：In order to strengthen the rapid and stable formation of hydrostatically oxygenic photogranules (HSP), a strategy of inoculating *Oscillatoria* sp., a typical kind of filamentous cyanobacteria, into activated sludge at the early stage of cultivation was proposed. The photogranulation process, morphology, extracellular polymeric substances contents, surface thermodynamics properties and microbial community were analyzed to elucidate the mechanism for efficient photogranulation in R1 (cultivated with *Oscillatoria* sp.). Results showed that the mixed liquid suspended solid of mature HSP in R1 (2.17g/L) was larger than that in R2 (cultivated without *Oscillatoria* sp.) (2.03g/L), and the surface of HSP in R1 was smoother. Values of PN/PS in R1 (2.01) was slightly larger than R2 (1.45) on 30d, implying that inoculating *Oscillatoria* sp. enhanced the hydrophobicity of granular sludge. Furthermore, results showed that the interfacial free energy was strengthened in R1 with the potential energy barrier of 2616.75*kT*, which was lower than the potential energy barrier in R2 (5037.85*kT*). The EPS producing bacteria were enriched and the relative abundance of enzymes related to EPS production was increased by 8%~156% in HSP after being strengthened by *Oscillatoria* sp. Overall, inoculating filamentous cyanobacteria *Oscillatoria* sp. into activated sludge facilitated the attachment and aggregation between bacteria and microalgae in HSP, contributing to the rapid development of HSP.

Key words：algal-bacterial symbiotic；strengthening strategy；formation mechanism；hydrophilicity and hydrophobicity；extended Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek theory

静态产氧光颗粒(HSP)是由于丝状蓝藻的缠绕作用和胞外聚合物(EPS)的絮凝作用在静态条件下形成的菌藻聚集体[1-2].与好氧颗粒污泥相比,HSP 具有更致密的颗粒结构[3]、更低的能量消耗[4]和更大的资源回收潜力[5]等优势特征.研究表明,多个污水处理厂的活性污泥均可在静水条件下,以自然光为唯一能量来源,自发形成 HSP[1].将其作为接种污泥快速启动生物污水处理系统,可以实现污染物的高效去除[6-7].然而,在不采取针对性强化措施的条件下,HSP 自然形成速率缓慢(30~45d)[2],造粒成功率较低(<60%)[8],极大程度上限制了静态产氧光颗粒技术的推广应用.因此,强化 HSP 快速稳定造粒将为该技术的进一步应用提供有效方法和理论基础.目前虽然围绕 HSP 的培养条件和形成过程已开展了研究[2,9],但是对于如何强化 HSP 快速造粒,以及探究其中关键微生物(如蓝藻)如何驱动污泥颗粒化的内在机制尚未见报道.

收稿日期：2024-12-17
基金项目：国家自然科学基金资助项目(52370029)
* 责任作者, 教授, swx@hit.edu.cn

丝状蓝藻是蓝藻按形态划分的一种类型,藻细胞单生或附着聚团繁殖于坚硬物体(如珊瑚、岩壁和沉积物等)表面[10-11].其中,颤藻具有较强的运动和滑行能力,在微观尺度上运动速度可达 10μm/s[12].丝状蓝藻通过产生胞外多糖形成蓝藻胶质鞘,以维持自身的运动能力和实现自我保护,同时黏性胞外多糖又有利于形成生物聚集体[13].据报道,丝状蓝藻通过吸附矿物质和有机物在喜马拉雅冰川表面进行繁殖,其相互缠绕形成蓝藻垫层附着在冰晶石颗粒表面,这种结构使得蓝藻及共生微生物在贫营养条件下得以聚集生长[14].Zhu 等[15]研究表明,在污泥颗粒化后期,丝状蓝藻占微生物群落组成的 90%,并且在扫描电子显微镜下观察到了密集的藻丝结构.以上研究表明丝状蓝藻具有促进微生物团聚的功能,并且对于污泥的颗粒化过程具有促进作用.然而,迄今为止,尚未有研究考察能否采用丝状蓝藻强化 HSP 快速形成,并且关于丝状蓝藻对 HSP 形成的促进机制(如增强污泥表面疏水性、提高污泥中微生物活性)仍缺乏系统研究.

基于此,本文提出通过接种丝状蓝藻强化 HSP 自凝聚的方法并揭示强化的内在机理.设置在培养初期接种丝状蓝藻(1 号培养组)和不接种丝状蓝藻(2 号培养组)的两组培养装置,考察两个培养组的污泥形成过程、形态特征、胞外聚合物含量及组分和微生物群落结构的变化规律;同时,通过扩展的 XDLVO 理论对 HSP 进行表面自由能分析,从热力学角度揭示丝状蓝藻在 HSP 颗粒化过程中的作用机理,旨在为 HSP 的规模化培养及后续研究提供参考.

1　材料与方法

1.1　试验材料与装置

1.1.1　接种污泥和藻种　接种活性污泥取自重庆市南岸区某污水处理厂回流池,污泥呈深褐色且理化性质良好.回流池污泥初始混合液悬浮固体浓度(Mixed liquid suspended solids, MLSS)为(14.9±0.07) g/L,污泥体积指数为(Sludge volume index, SVI_{30})为(90.0±0.04) mL/g.

丝状蓝藻为颤藻(*Oscillatoria* sp., FACHB−868),购自中国科学院淡水藻种库.将购得颤藻采用 BG11 培养基在恒温光照培养箱(GHP−160EP)培养,扩培 30d 后取藻液与活性污泥共同接种至玻璃培养瓶,接种至培养瓶的藻液生物质浓度为(0.9±0.03) g/L,活性污泥 MLSS 为(1.5±0.06) g/L.

1.1.2　接种生活污水　试验采用实际生活污水进行颗粒污泥培养,生活污水取自校园内学生生活区排水沟.水质组成为:COD 浓度 95mg/L,NH_4^+−N 浓度 43mg/L,NO_3^-−N 浓度 0.35mg/L,PO_4^{3-}−P 浓度 4.47mg/L.生活污水 pH 值范围为 7.2~7.5 左右,进行接种操作时采用磁力搅拌器对生活污水进行搅拌,以保证培养水质均匀统一.

1.1.3　培养装置　本试验培养装置为 15mL 透光性良好的玻璃瓶,其工作容积为 10mL,包括 1mL 活性污泥,3mL 藻液和 6mL 生活污水.累计采用 600 个规格完全相同的玻璃培养瓶进行试验,其中在接种时添加颤藻的组别为 1 号培养组,未添加颤藻的组别为 2 号培养组,两个培养组数量各为 300 瓶.将是否接种颤藻作为唯一控制变量,将所有培养瓶置于培养架上静置培养.实验在 4klux 低光照强度下进行,温度控制在(24±2)℃.试验中两个培养组在静态条件下连续培养 30d,根据颗粒污泥生长状态将培养过程分为 3 个阶段,分别为:污泥压实期(0~3d)、藻类繁殖期(4~14d)和颗粒成熟期(15~30d).

1.2　检测指标与分析方法

污泥 MLSS、沉降速度、平均粒径和完整性系数等指标同 Gikonyo 等[3]和 Zhang 等[16]的报道.HSP 形态特征采用数码相机拍照记录,同时采用扫描电子显微镜(ZEISS Gemini 300,德国)观察颗粒污泥的微观形态.

采用热提取法对 HSP 中的 EPS 提取检测[17],其中胞外蛋白采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(Solarbio)进行测定,胞外多糖采用苯酚−硫酸法测定[18].采用傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet 670,美国)对污泥 EPS 含有的官能团进行特性分析.

1.3　表面自由能分析

颗粒污泥样品经超声波细胞破碎仪(Xinyi−250N,中国)在 20kHz 下破碎 5min,用超纯水稀释后在 0.45μm 水系膜上形成厚度均匀的污泥薄层以待进行接触角测定.使用接触角测量仪(SL150,美国)测量污泥样品与 3 种介质(水、甲酰胺和二碘甲烷)的接触角.取颗粒污泥样品通过超声波细胞破碎仪破碎 5~8min,再用 0.1mol/L 氯化钠溶液稀释悬浮液至 OD_{546} 为 0.1.采用 Zeta 电位分析仪(Zetarsizer Nano

ZS90,英国)测定颗粒污泥样品的 Zeta 电位.

根据XDLVO理论,颗粒污泥中微生物间的相互作用力为范德华相互作用(LW)、静电双电层相互作用(EL)和路易斯酸碱相互作用(AB)之和,即

$$W_{\mathrm{T}} = W_{\mathrm{LW}} + W_{\mathrm{EL}} + W_{\mathrm{AB}} \tag{1}$$

式中:W_{T} 为颗粒污泥中微生物间相互作用总作用力之和,W_{LW}、W_{EL} 和 W_{AB} 分别为颗粒污泥中微生物间的范德华相互作用、静电双电层相互作用和路易斯酸碱相互作用.

假定颗粒为形状规则的球体,W_{LW}、W_{EL} 和 W_{AB} 的计算公式可表示如下:

$$W_{\mathrm{LW}} = 2\pi\Delta G_{\mathrm{adh}}^{\mathrm{LW}} \frac{l_0 R}{H} \tag{2}$$

$$W_{\mathrm{EL}} = 2\pi\varepsilon R\varphi_{\mathrm{s}}^2 \ln(1+\exp(-\kappa H)) \tag{3}$$

$$W_{\mathrm{AB}} = \pi R\lambda\Delta G_{\mathrm{adh}}^{\mathrm{AB}} \exp(\frac{l_0 - H}{\lambda}) \tag{4}$$

式中:R 为颗粒污泥半径;H 为细菌间的间隔距离;$\Delta G_{\mathrm{adh}}^{\mathrm{LW}}$ 为平衡距离 l_0 处的范德华力;ε 为液体的介电常数,$\varepsilon = \varepsilon_0\varepsilon_r$,$\varepsilon_0$ 为真空介电常数,ε_{r} 为相对介电常数;φ_{s} 采用 Zeta 电位;λ为水中细菌水合层的长度;$\Delta G_{\mathrm{adh}}^{\mathrm{AB}}$ 为平衡距离 l_0 处的 Lewis 酸碱水合作用力;κ为 Debye 长度的倒数,计算式如下:

$$\kappa = (\frac{4e^2 N_{\mathrm{A}} I}{\varepsilon kT})^{\frac{1}{2}} \tag{5}$$

式中:e 为电子基本电荷;N_{A} 为阿伏伽德罗常数;I 为离子强度;k 为玻尔兹曼常数;T 为绝对温度.

微生物与水的界面自由能 ΔG_{adh} 计算方式同 Huang 等[19]的报道.公式中各参数详细取值见表 1.

表 1 XDLVO 理论参数和取值

Table 1 Parameters and values of XDLVO theory

参数	数值	单位
R	6×10^{-6}	m
λ	0.6	nm
l_0	0.158	nm
e	1.062×10^{-19}	C
ε_0	8.85×10^{-12}	C/(V·m)
ε_r	80	
N_{A}	6.022×10^{23}	$\mathrm{mol^{-1}}$
I	0.1	mol/L
k	1.381×10^{-23}	J/K
T	298	K

1.4 分子生物学测定方法

试验采用 16S rRNA 和 18S rRNA 基因高通量测序技术分析第 30d 两个培养组中细菌和藻类群落结构的多样性和组成.采用 E.Z.N.A.®土壤 DNA 试剂盒(Omega,美国)提取 HSP 样品 DNA,细菌 16S rRNA 的 V3−V4 区扩增引物为 338F 和 806R;藻类 18S rRNA 的扩增引物为 P23SrV−1F 和 P23SrV−1R.按照 Zhang 等[16]方法进行高通量测序和物种注释分析.

2 结果与讨论

2.1 静态产氧光颗粒的形成过程

2.1.1 培养成功率和强化效果 根据文献报道,将培养瓶置于摇床中垂直振荡(100r/min, 30s),经过振荡测试后未见明显絮状污泥的培养瓶即认为培养成功[4].1 号培养组中污泥颗粒化周期较短(21~25d),在 30d 内颗粒培养成功率达 90%以上.2 号培养组中污泥颗粒化周期(25~30d)长于 1 号培养组,且 HSP 培养成功率较低(60%左右).相比之下,1 号培养组的污泥颗粒化进程更快,培养成功率更高,接种颤藻对于 HSP 形成具有明显的促进作用.

2.1.2 污泥生物量和沉降速度 如图 1(a)所示,在 HSP 培养的 30d 内,两个培养组中 HSP 的污泥生物量均呈增加趋势.然而,1 号培养组污泥生物量在培养前 10d 略微下降,这可能是由于培养时接种的颤藻与活性污泥在密闭条件下竞争营养物质,使得部分微生物衰亡,污泥生物量有所下降[20].在培养后期(15~30d),HSP 污泥量持续增加,最终由初始 1.60g/L 增长至 2.17g/L.与 1 号培养组相比,2 号培养组污泥生物量增长趋势较缓,在培养过程中由初始 1.50g/L 增长至 2.03g/L.以上结果表明接种颤藻促进了 HSP 污泥生物量增长.在 HSP 颗粒化过程中,两个培养组中污泥沉降性能均逐渐增强(图 1(b)).由于培养前期 1 号培养组的 MLSS 低于 2 号培养组,且接种的颤藻具有产氧性能,造成污泥密度降低不利于沉降[21],因此,在培养前 10d,1 号培养组 HSP 的沉降性能略低于后者.随着培养过程持续进行,1 号培养组中污泥量大幅增加,培养至第 30d 时沉降速度达 20.37mm/s,沉降性能明显优于 2 号培养组颗粒污泥(16.86mm/s).上述结果说明接种颤藻有利于形成污泥量更大且沉降性能优良的 HSP.

2.1.3 颗粒污泥粒径与完整性系数 图 2(a)显示,随着颗粒化过程进行,两个培养组中的 HSP 粒径持

续减小,在第 30d 分别缩小至 0.40, 0.56cm,1 号培养组中的污泥收缩速度明显快于 2 号培养组.这可能是由于颤藻的滑动作用带动污泥中细菌不断聚集,从而加速颗粒污泥的收缩[22].由图 2(b)可知,对于成熟 HSP,2 个培养组中 HSP 的完整性系数分别为 3.5%和 4.0%,表明 1 号培养组中 HSP 具有更加稳定的颗粒结构[23].尤其是在培养期的第 15d,1 号培养组中 HSP 的完整性系数已接近培养末期相应数值,表明此时颗粒污泥已具有较高的结构稳定性.接种颤藻有利于 HSP 快速收缩聚集形成致密稳定的颗粒结构.

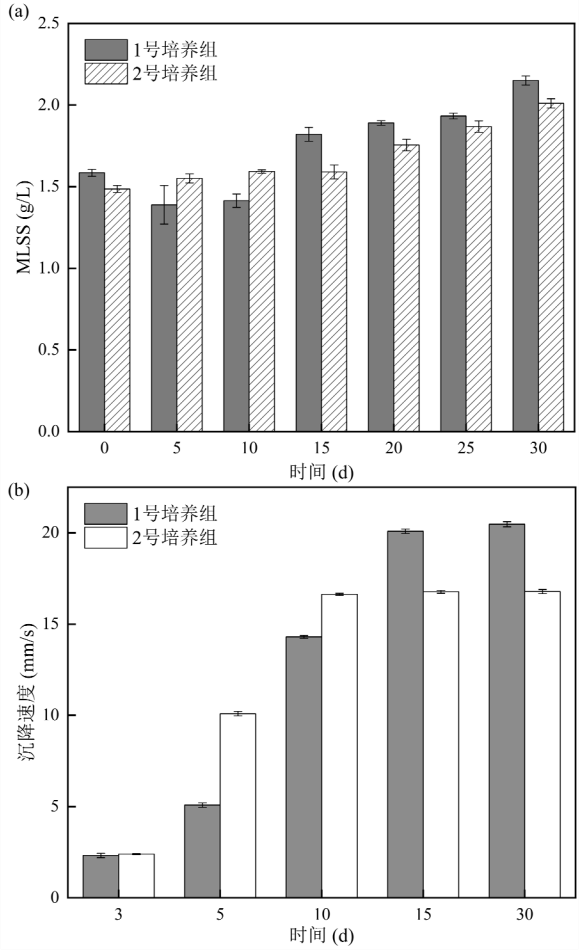


图 1　培养期间(a) MLSS 和(b)沉降速度变化

Fig.1　Variations of (a) mixed liquid suspended solids and (b) setting velocity during the cultivation process

2.2　静态产氧光颗粒的形态特征

从图 3(a1)~(a3)可以观察到,在污泥压实期至藻类繁殖期,1 号培养组中污泥收缩趋势明显,颗粒逐渐变得致密,并已经形成了球状颗粒结构;相比之下 2 号培养组中污泥初步呈现收缩形态,污泥则呈椭圆形的饼状结构.在颗粒成熟阶段(图 3(b1)~(b3)),1 号培养组中逐渐形成了沉降性能良好、形状规则的球形 HSP.2 号培养组则相对滞后进入颗粒成熟期,且即使在培养结束后同样得到了 HSP 颗粒污泥,其结构稳定性较 1 号培养组较差(图 2(b)).利用扫描电子显微镜对颗粒污泥微观结构进行观察,通过对比发现,1 号培养组中 HSP 表面颤藻分布规律,结构致密(图 3(c1)),而 2 号培养组中颤藻则分布散乱(图 3(d1)).在相同放大倍数下,1 号培养组中颗粒污泥表面孔隙较少,表面结构更加平整,可以观察到颤藻的微观结构(图 3(c2)~(c3)).而在 2 号培养组中,HSP 表面常见有孔隙结构,不易观察到明显的颤藻(图 3(d2)~(d3)).所以在培养初期接种颤藻有利于其均匀分布在污泥表面,有效发挥其促进微生物团聚的作用,有利于高效快速形成结构致密稳定的颗粒污泥.

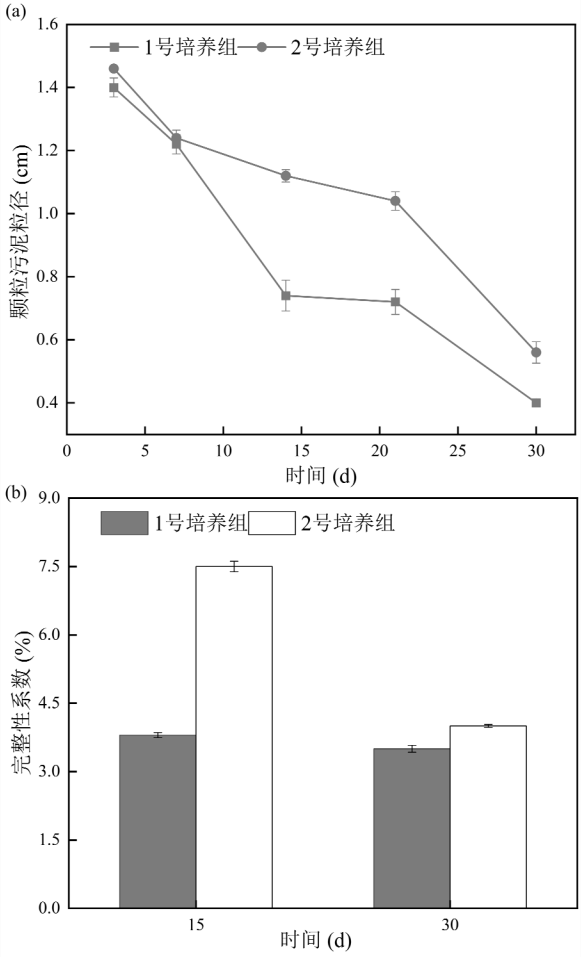


图 2　培养期间(a)颗粒污泥粒径和(b)完整性系数变化

Fig.2　Variations of (a) particle size and (b) integrity coefficient during the cultivation process

2.3 静态产氧光颗粒的 EPS 分泌情况

2.3.1 静态产氧光颗粒 EPS 含量 EPS 是污泥颗粒化过程中促进微生物聚集和维持聚集体结构的关键物质[24-26].由图 4 可知,随着颗粒污泥培养过程的进行,1 号培养组中污泥 EPS 含量在第 7d 达到最大值 52.30mg/g MLSS,是同期 2 号培养组中污泥 EPS 含量的 1.17 倍.同一时期 1 号培养组中更多的 EPS 含量表明其颗粒化程度较 2 号培养组更高.此外,在整个 HSP 培养期间,两个培养组中污泥 EPS 含量均呈先上升后下降的趋势,这可能是由于藻类大量生长,与细菌共生协同分泌 EPS[27];后期藻类生长趋于稳定,颗粒污泥逐渐形成,微生物对水环境产生一定适应能力,进而减少了 EPS 的分泌[16].以上结果表明,接种颤藻促进污泥分泌 EPS,有利于微生物之间的紧密聚集.

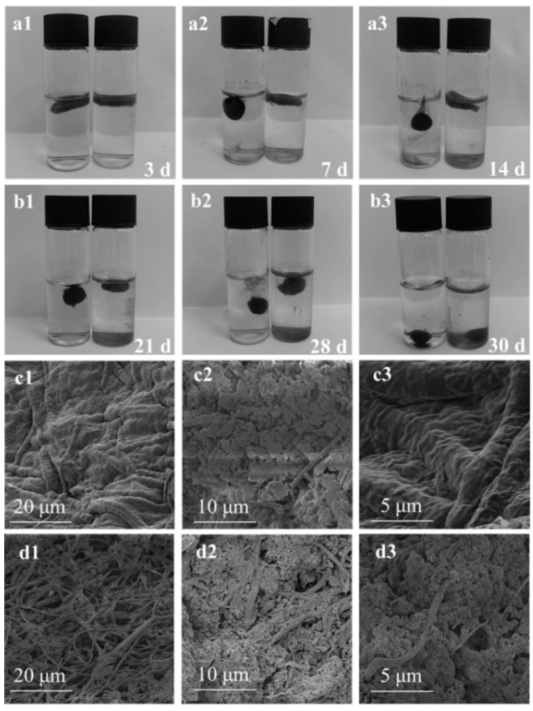


图 3 培养期间(a1~b3) HSP 表观形态变化和第 30d 时(c1~d3) HSP 的微观形貌

Fig.3 (a1~b3) Apparent morphology of HSP on 3d, 7d, 14d, 21d, 28d and 30d. (c1~d3) SEM morphology of HSP on 30d

(a1~b3)中的左侧培养瓶-1 号培养组; (a1~b3)中的右侧培养瓶-2 号培养组; (c1~c3)-1 号培养组; (d1~d3)-2 号培养组

胞外蛋白 PN 是一种疏水性较高的物质,其与胞外多糖 PS 的比值可以反映污泥表面疏水性强弱[28].在 2 个培养组中,污泥颗粒化过程中 PN/PS 大致均呈先上升后下降的趋势,这一结果与颗粒化过程密切相关.在污泥压实期和藻类繁殖期,污泥中藻类和细菌分泌更多 PN 使得污泥表面疏水性升高,降低污泥表面吉布斯自由能,从而促进微生物团聚收缩[29].在污泥颗粒化后期,长期贫营养物质环境使得微生物新陈代谢速度降低,PN/PS 比值随之下降.值得注意的是,培养至第 30d 时,1 号培养组污泥 PN/PS 比值(2.01)高于 2 号培养组(1.45),表明接种颤藻形成的颗粒污泥表面具有更强的疏水性,微生物聚集效果更加明显.

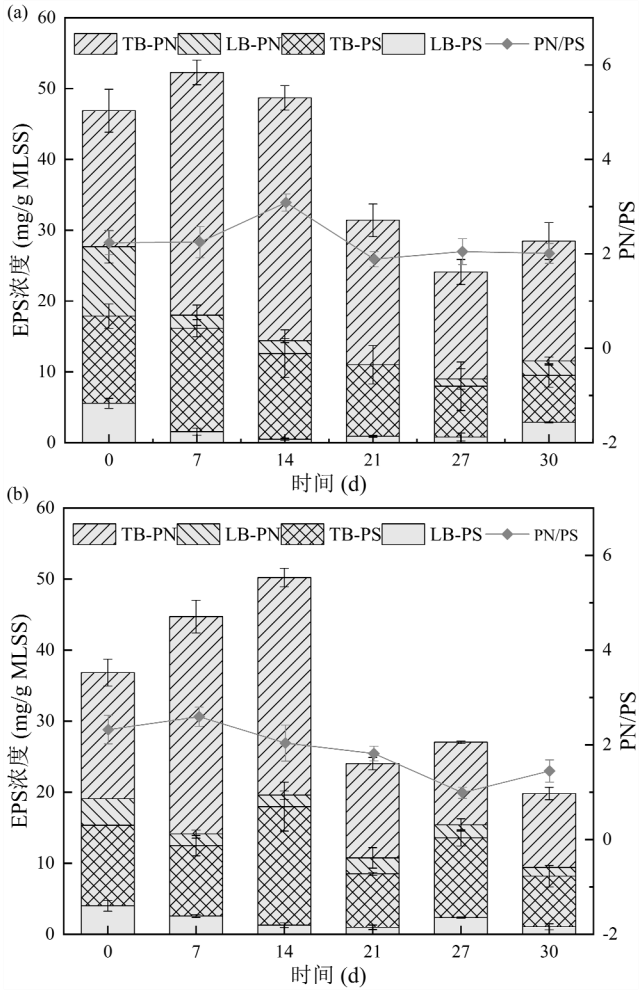


图 4 (a) 1 号和(b) 2 号培养组中污泥 EPS 含量变化

Fig.4 Evolution of the EPS content of the HSP from two cultivation groups

2.3.2 静态产氧光颗粒 EPS 所含官能团 由图 5 可知,所有的 EPS 样品均在 3440cm^{-1}(与多糖-OH 伸缩振动有关)及 1632cm^{-1}(与蛋白质 C=O 键(酰胺Ⅰ)有关)出现吸收峰[30-31].对于该两种官能团结构,相比之下,1 号培养组中污泥紧密结合型 EPS 的吸收峰强

度最高,说明两种官能团在其颗粒化过程中起到关键作用[32].此外,2 号培养组中 EPS 在 1384cm^{-1}(与甲基中 C−H 键伸缩振动有关) 和 1084cm^{-1}(与多糖 C−O−C 键有关)处具有较为明显的吸收峰,说明以上两种官能团在其污泥 EPS 组分中较为常见,并参与至颗粒化过程中,而 1 号培养组中该两种官能团的作用则较弱.

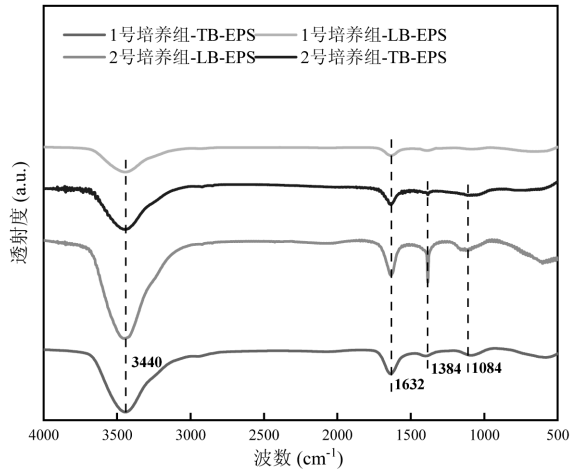


图 5　两个培养组中 HSP 的 FTIR 谱图(第 30d)

Fig.5　FTIR spectra of the HSP from two cultivation groups

2.4　静态产氧光颗粒的表面自由能分析

由表 2 可知,在 2 个培养组的污泥完全颗粒化后,二者与水的接触角分别为 90.32°, 89.11°,均大于 65°,表明此时污泥表面疏水性占主导地位[33].对于污泥与 3 种介质的接触角,1 号培养组中 HSP 的数据始终大于 2 号培养组,表明 1 号培养组颗粒表面疏水性相对更强,微生物聚集程度和颗粒化程度高于 2 号培养组[34].同时,Zeta 电位能够反映微生物之间静电斥力强弱[34],1 号培养组中 HSP 的 Zeta 电位值(−7.7mV)高于 2 号培养组(−8.71mV),说明微生物相互聚集所需克服静电斥力更低,微生物更容易发生聚集.

表 2　2 个培养组中 HSP 颗粒污泥的 Zeta 和接触角(第 30d)

Table 2　Zeta potential and contact angle of the HSP from two cultivation groups

培养组	Zeta 电位	水(°)	甲酰胺(°)	二碘甲烷(°)
1 号	−7.7	90.32	66.69	49.17
2 号	−8.71	89.11	54.74	44.25

根据表面热力学公式以及表 2 数据结果,计算得 1 号培养组 HSP 的界面自由能 ΔG_{adh} (−78.24mJ/m^2)值低于 2 号培养组(−76.53mJ/m^2).由热力学理论,ΔG_{adh} 值更低,微生物之间更容易相互靠近附着[28].在培养初期接种的颤藻对污泥的表面热力学特性有强化作用,提高了污泥微生物表面的疏水性,提高微生物聚集性能,这与接触角的分析结果相一致.进一步利用 XDLVO 理论阐明丝状蓝藻促进微生物聚集的内在机制.图 6 中,总势能曲线上的最高点称为斥力能垒,微生物聚集时需克服这一能垒的动能,因此能垒高低决定颗粒污泥的聚集性能[28].结果表明,两个培养组中污泥分别在 4.05, 3.85nm 时达到了能垒,分别为 2616.75, 5037.85kT.相比之下,1 号培养组污泥具有更低的能垒,在微生物发生聚集的过程中所需克服的能量更低,表明其具有更强的微生物聚合能力.在颗粒污泥培养初期接种颤藻,有利于提高污泥微生物表面疏水性,强化污泥表面热力学特性,降低微生物聚集所需克服的能垒,微生物更易聚集,进而促进了静态产氧光颗粒的形成.

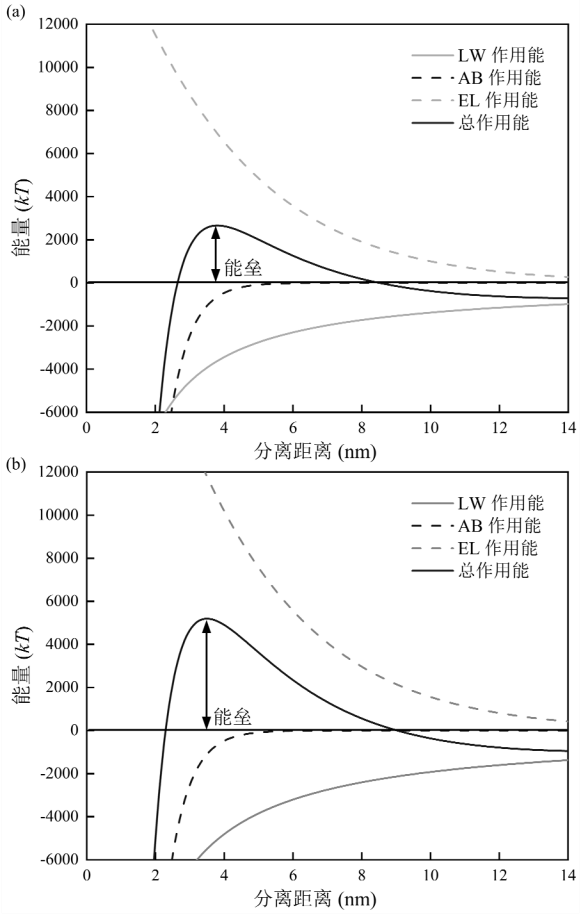


图 6　(a) 1 号和(b) 2 号培养组中 HSP 的 XDLVO 曲线

Fig.6　XDLVO curves of the HSP from the two cultivation groups

2.5 静态产氧光颗粒微生物群落结构分析

如表 3 所示,1 号培养组中表征物种丰富度的 Sobs 指数(145)、Chao 指数(145)和 Ace 指数(145)均高于 2 号培养组中相应指数,表明 1 号培养组中污泥微生物群落组成更加丰富.此外,由多样性指数可知,与 2 号培养组相比,1 号培养组的 Simpson 指数较低(0.06),Shannon 指数较高(3.82),说明 1 号培养组中污泥微生物种群多样性比 2 号培养组高,即使针对性接种颤藻,在封闭的培养环境和贫营养物质条件下,接种的颤藻和细菌能够在培养瓶中以平衡共生的方式富集生长.

应用 Silva (16s rRNA)数据库对物种名称及相对丰度进行注释和分析,由图 7(a),在门分类水平上,2 个培养组的污泥中变形菌门(Proteobacteria)相对丰度最高(分别为 45.17%和 79.74%).变形菌门是颗粒污泥系统中的常见微生物,通常具有良好的分泌 EPS 能力并在脱氮除磷过程中发挥重要作用[35,37].此外,拟杆菌门(Bacteroidota)在两个培养组污泥中的相对丰度分别为 6.81%和 2.54%,同样发挥着分泌 EPS 的作用.值得注意的是,与其他颗粒污泥体系不同,在 2 个 HSP 培养组中,绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度位列第 2,分别为 7.86%(1 号培养组)和 6.59%(2 号培养组),这可能是由于 HSP 培养系统长期处于低光照条件所导致的.绿弯菌门(Chloroflexi)是一类常见的光合细菌,在微生物体系中能够有效去除氮磷等污染物,并分泌辅酶和蛋白质等物质对自身和共生微生物进行保护[38-39].

在属分类水平上,黄单胞菌属(*Xanthomonas*)在 1 号培养组中得到富集,相对丰度为 14.02%,是一种自我凝聚能力较强的 EPS 分泌菌属[40].而 2 号培养组中黄单胞菌属相对丰度仅为 1.66%,缺少黄单胞菌属的 2 号培养组颗粒化速度更慢,说明黄单胞菌属可能是促进 HSP 颗粒化的关键微生物.除此之外,unclassified_*f__Rhodobacteraceae* 属在两个培养组污泥中相对丰度有所差异,研究表明,unclassified_*f__Rhodobacteraceae* 属促进微生物在藻类表面发生定殖[41],使得细菌容易与其附着生长,这与图 3 中 2 号培养组 HSP 表面藻类和细菌交错生长的现象相吻合.

由于在培养初期对培养瓶中污泥采取了针对性调控,应用 18s rRNA 对藻类群落结构进行测定.由图 7(c)得,1 号培养组中蓝藻门的相对丰度(17.64%)远高于 2 号培养组(1.21%),表明颤藻在 1 号培养组中得到了有效富集,并且作为优势物种促进污泥颗粒化过程的进行.以上研究结果表明,接种颤藻使得其在 HSP 培养体系中富集的同时,提高了污泥微生物的丰富度和多样性.颤藻在和细菌平衡共生的过程中促进了微生物聚集,使得 HSP 快速稳定形成.

表 3 HSP 中微生物群落的丰度和多样性指数

Table 3 Richness and diversity of the microbial communities in the HSP from two cultivation groups

培养组	Sobs	Chao	Ace	Shannon	Simpson
1 号	145	145	145	3.82	0.06
2 号	129	129	129	3.08	0.13

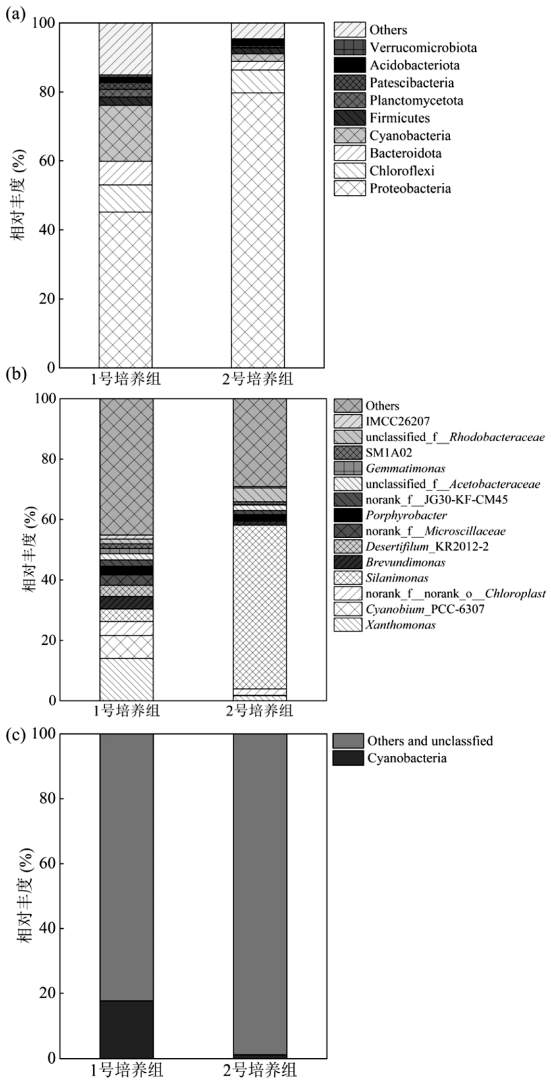


图 7 两个培养组中微生物群落组成

Fig.7 Taxonomic classification of the microbial communities in HSP

(a) 16s rRNA−门水平;(b) 16s rRNA−属水平;(c) 18s rRNA−门水平

2.6　丝状蓝藻强化静态产氧光颗粒快速自凝聚机制分析

对微生物群落结构的分析表明,1 号培养组中污泥颗粒化较快可能是由于 EPS 产生菌以及颤藻的大量富集,因此,基于 16s rRNA 数据利用 PICRUST2 进行功能预测,进一步探究丝状蓝藻强化污泥颗粒化进程的内在机制.图 8 中,除调控蛋氨酸、天冬氨酸和 D−葡萄糖生物合成的关键酶之外,1 号培养组中大部分与 EPS 分泌有关的酶相对丰度均大于 2 号培养组,其中,调控谷氨酸合成的关键酶相对丰度差异最大,分别为 16.71%(1 号培养组)和 8.00%(2 号培养组).Wu 等[42]研究表明,在 10mg/L 的硝酸盐刺激下,好氧颗粒污泥反应器中污泥调控谷氨酸的相应酶出现上调,使得污泥分泌更多 EPS 以进行自我保护.在 1 号培养组中,在 HSP 培养过程中,接种颤藻会与细菌竞争封闭环境中的营养物质,细菌可能通过分泌更多 EPS 以提高对环境的适应性,体现在 1 号培养组中绝大多数调控 PN 的关键酶上调.

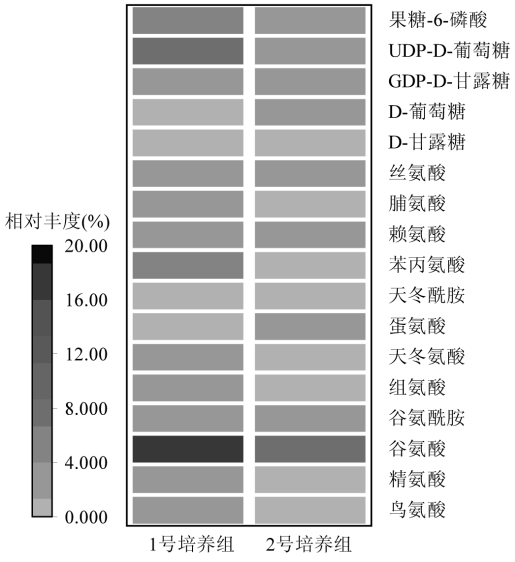


图 8　两个培养组中基于 PICRUST2 功能预测的 EPS 关键酶的相对丰度

Fig.8　Relative abundance of functional enzymes related to EPS based on PICRUST2 from the two cultivation groups

1 号培养组中调控果糖−6−磷酸和 UDP−D−葡萄糖合成的关键酶相对丰度大于 2 号培养组.果糖−6−磷酸和 UDP−D−葡萄糖是颗粒污泥中多糖合成的前体物质[43],1 号培养组中二者关键酶的上调有助于污泥中 PS 的生物合成.此外,Zhou 等[44]研究表明,组氨酸是促进木糖葡萄球菌生物膜形成的关键氨基酸,1 号培养组中组氨酸关键酶的相对丰度略高于 2 号培养组,这可能与 1 号培养组中微生物生物膜的形成有关.综上所述,主导污泥中 EPS 产生和生物膜形成的功能酶在 HSP 内部与细菌和藻类协同作用,共同促进了 HSP 的颗粒化进程.

如上所述,在 HSP 形成过程中,通过在颗粒污泥培养初期接种颤藻的方式培养 HSP,得到了沉降性能优良、相对强度更高、表面疏水性强以及微生物群落结构丰富的颗粒污泥(图 9).在 HSP 颗粒化过程中,细菌和微藻先后经历了相互靠近、聚合凝聚和颗粒形成 3 个阶段,期间缠绕的颤藻为细菌附着提供位点,促进细菌生长繁殖;EPS 自身黏性以及所带电荷促进微生物相互聚集,使得 HSP 在静态条件下快速形成,同时表现出优良的性状特征.

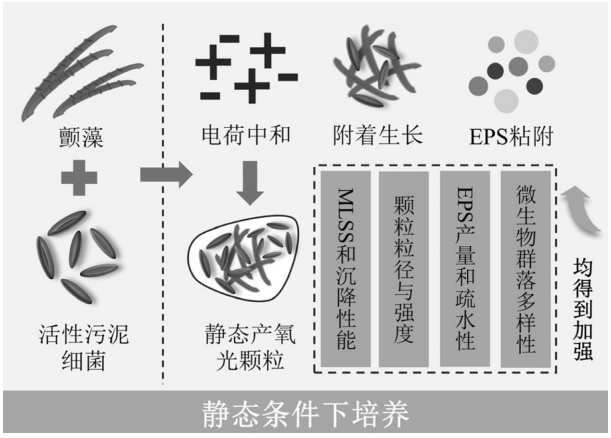


图 9　HSP 的形成过程及自凝聚机理

Fig.9　Formation progression and mechanism of HSP

3　结论

3.1　在培养初期接种颤藻 *Oscillatoria* sp.,污泥颗粒化进程明显加快,培养出的成熟 HSP 具有更大的污泥生物量(2.17g/L)、更快的沉降速度(20.37mm/s)和更高的结构完整性(完整性系数为 3.8%),颗粒污泥的沉降性和结构稳定性得到有效提升.成熟 HSP 表面由排布紧密的颤藻包裹,表面结构光滑完整.

3.2　接种的颤藻与活性污泥中原有微生物共同分泌 EPS,在第 7d 达到最大值 32.30mg/g MLSS,是同期 2 号培养组污泥 EPS 的 1.17 倍.同时,与 2 号培养组相比,污泥 PN/PS 提高了 38.62%,表明接种颤藻提高了颗粒污泥的表面疏水性.

3.3 对成熟 HSP 进行表面自由能分析,结果表明在污泥颗粒化过程中,两个培养组的污泥中微生物相互聚集所需克服的势能能垒分别为 2616.75, 5037.85kT,1 号培养组中微生物之间更容易发生聚集.接种颤藻加强了颗粒污泥表面热力学特性,使得颗粒污泥更易团聚收缩,促进了 HSP 的快速形成.

3.4 接种颤藻的培养组中富集了更多的 EPS 产生菌,且调控谷氨酸、果糖-6-磷酸以及组氨酸等 EPS 重要前体物质的关键酶相对丰度上调 8%~156%,表明 1 号培养组污泥具有更高的 EPS 分泌潜能,与 EPS 数据结果相一致.接种颤藻与污泥中原有微生物协同作用,共同赋予了 HSP 更加致密稳定的优势特征.

参考文献:

[1] Milferstedt K, Kuo-Dahab W C, Butler C S, et al. The importance of filamentous cyanobacteria in the development of oxygenic photogranules [J]. Scientific Report, 2017,7(1):17944.

[2] Kuo-Dahab W C, Stauch-White K, Butler C S, et al. Investigation of the fate and dynamics of extracellular polymeric substances (EPS) during sludge-based photogranulation under hydrostatic conditions [J]. Environmental Science & Technology, 2018,52(18):10462-10471.

[3] Gikonyo J G, Ansari A, Park C, et al. Physical characterization of oxygenic photogranules [J]. Biochemical Engineering Journal, 2022, 186:108592.

[4] 焦显辉.无曝气藻菌聚集体的培养及其共生机制研究 [D]. 青岛:山东大学, 2022.
Jiao X H. Cultivation of non-aerated microalgae-bacteria aggregates and its symbiosis mechanism [D]. Qingdao: Shandong University, 2022.

[5] Bhatia S K, Ahuja V, Chandel N, et al. An overview on microalgal-bacterial granular consortia for resource recovery and wastewater treatment [J]. Bioresource Technology, 2022,351:127028.

[6] Abouhend A S, Milferstedt K, Hamelin J, et al. Growth progression of oxygenic photogranules and its impact on bioactivity for aeration-free wastewater treatment [J]. Environmental Science & Technology, 2020,54(1):486-496.

[7] Abouhend A S, Gikonyo J G, Patton M, et al. Role of hydrodynamic shear in the oxygenic photogranule (OPG) wastewater treatment process [J]. ACS ES&T Water, 2023,3:659-668.

[8] Smetana G, Grosser A. The oxygenic photogranules—current progress on the technology and perspectives in wastewater treatment: A review [J]. Energies, 2023,16:523.

[9] Ansari Abeera A, Ansari Arfa A, Abouhend A S, et al. Photogranulation in a hydrostatic environment occurs with limitation of iron [J]. Environmental Science & Technology, 2021,55(15): 10672-10683.

[10] 钱志萍.丝状蓝藻产氢藻种的筛选及其产氢调控 [D]. 上海:上海师范大学, 2010.
Qian Z P. Screening of hydrogen-producing algae of filamentous cyanobacteria and its hydrogen production regulation [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2010.

[11] 陈 亮.臭氧氧化对颤藻及其异味物质去除的研究 [D]. 南昌:江西师范大学, 2023.
Chen L. Study on the removal of *Oscillatoria* sp. and its odorous compounds by ozone oxidation [D]. Nanchang: Jiangxi Normal University, 2023.

[12] Castenholz R W, Rippka R, Herdman M, et al. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Section Ⅲ, 2015.Langford H J, Irvine-Fynn T D L, Edwards A, et al. A spatial investigation of the environmental controls over cryoconite aggregation on Longyearbreen glacier, Svalbard [J]. Biogeosciences, 2014,11(19):5365-5380.

[13] Langford H J, Irvine-Fynn T D L, Edwards A, et al. A spatial investigation of the environmental controls over cryoconite aggregation on Longyearbreen glacier, Svalbard [J]. Biogeosciences, 2014,11(19),5365-5380.

[14] Takeuchi N, Kohshima S, Seko K. Structure, formation, and darkening process of albedo-reducing material (cryoconite) on a Himalayan glacier: A granular algal mat growing on the glacier [J]. Arctic, Antarctic, and Alpine Research, 2001,33:115-122.

[15] Zhu J, You H, Li Z P, et al. Formation mechanism and metabolic pathways of photogranule in batch and continuous-flow mode under high salinity stress [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,452: 139306.

[16] Zhang B, Wu L, Shi W X, et al. A novel strategy for rapid development of a self-sustaining symbiotic algal-bacterial granular sludge: Applying algal-mycelial pellets as nuclei [J]. Water Research, 2022,214:118210.

[17] Shi W X, Yang X Y, Huang S C, et al. Comprehensive analysis reveals the differentiated influential mechanism of degradable poly (ε-caprolactone) and polybutylene succinate microplastics on nitrogen transformation in aerobic granular sludge systems [J]. Chemical Engineering Journal, 2024,479:147619.

[18] Zhang B, Huang S C, Wu L, et al. Micro(nano)plastic size and concentration co-differentiate the treatment performance and toxicity mechanism in aerobic granular sludge systems [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,457:141212.

[19] Huang S C, Zhang B, Cui F Y, et al. Mechanisms underlying the detrimental impact of micro(nano)plastics on the stability of aerobic granular sludge: Interactions between micro(nano)plastics and extracellular polymeric substances [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024,478:135512.

[20] Yu Q N, Pei X Y, Wei Y P, et al. The roles of bacteria in resource recovery, wastewater treatment and carbon fixation by microalgae-bacteria consortia: A critical review [J]. Algal Research, 2023,69: 102938.

[21] Chen Z P, Qiu S, Li M T, et al. Effect of free ammonia shock on *Chlorella* sp. in wastewater: Concentration-dependent activity response and enhanced settleability [J]. Water Research, 2022,226: 119305.

[22] Murakami T, Takeuchi N, Mori H, et al. Metagenomics reveals global-scale contrasts in nitrogen cycling and cyanobacterial light-harvesting mechanisms in glacier cryoconite [J]. Microbiome, 2022,

10(1):50.

[23] Ai N, Yang Z H, Lou B C, et al. Impact of stepwisely reducing settling time on the formation and performance of aerobic granular sludge [J]. Journal of Water Process Engineering, 2024,60:105117.

[24] Zhou Y, Wen Q X, Pang C, et al. Performance and adaptation mechanisms of anammox granular sludge under salinity stress: Role of EPS, microbial community and functional genes [J]. Chemical Engineering Journal, 2025,514:163185.

[25] 王景华,袁林江,贺向峰,等.EPS 对细菌凝聚和絮状污泥颗粒化的作用 [J]. 中国环境科学, 2024,44(9):4893-4900.
Wang J H, Yuan L J, He X F, et al. Research on the effect of EPS on bacterial coagulation and granulation of flocculated sludge [J]. China Environmental Science, 2024,44(9):4893-4900.

[26] Geng M Y, Li T, Qu F S, et al. Insights into the impact of feeding with polymers on aerobic granular sludge development and stability: performance and mechanisms [J]. Bioresource Technology, 2025,426: 132368.

[27] He Q, Chen L, Zhang S, et al. Natural sunlight induced rapid formation of water-born algal-bacterial granules in an aerobic bacterial granular photo-sequencing batch reactor [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018,359:222-230.

[28] 邬　莲.菌丝球裹藻凝结核强化菌-藻共生颗粒污泥快速形成及稳定性研究 [D]. 重庆:重庆大学, 2022.
Wu L. Study on enhancing the rapid formation and system stability of algal-bacterial granular sludge by applying algal-mycelial pellets [D]. Chongqing: Chongqing University, 2022.

[29] Wang Y Y, Wang J Q, Liu Z P, et al. Effect of EPS and its forms of aerobic granular sludge on sludge aggregation performance during granulation process based on XDLVO theory [J]. Science of the Total Environment, 2021,795:148682.

[30] Doloman A, De Bruin S, Van Loosdrecht M C M, et al. Coupling extracellular glycan composition with metagenomic data in papermill and brewery anaerobic granular sludges [J]. Water Research, 2024,252: 121240.

[31] Lotti T, Carretti E, Berti D, et al. Extraction, recovery and characterization of structural extracellular polymeric substances from anammox granular sludge [J]. Journal of Environmental Management, 2019,236:649-656.

[32] Yang B, Bin L Y, Chen W R, et al. Unveiling the secrets of the bistability of aerobic granular sludge in a continuous flow membrane bioreactor for treating real municipal wastewater [J]. Chemical Engineering Journal, 2025,510:161527.

[33] Liu X M, Sheng G P, Wang J, et al. Quantifying the surface characteristics and flocculability of Ralstonia eutropha [J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2008,79(2):187-194.

[34] Pan W, Zhang X, Deng R, et al. TA and CTAB treatment synergistically enhance activated sludge dewatering by lowering proteins and boosting Zeta potential [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2024,12(4):113102.

[35] Tang L F, Gao M M, Liang S, et al. Enhanced biological phosphorus removal sustained by aeration-free filamentous microalgal-bacterial granular sludge [J]. Water Research, 2024,253:121315.

[36] 唐　怡,张　冰,樊佳炜,等.布洛芬对好氧颗粒污泥的影响及其去除机理 [J]. 中国环境科学, 2024,44(11):6077-6087.
Tang Y, Zhang B, Fan J W, et al. Unravelling the mechanism of ibuprofen's effect on aerobic granular sludge and its removal mechanism [J]. China Environmental Science, 2024,44(11):6077-6087.

[37] Ruiz-Haddad L, Shaw D R, Ali M, et al. Characterization of the core microbial community across different aggregate sizes in full-scale aerobic granular sludge plants and their relevance to wastewater treatment performance [J]. Water Research, 2025,274,123036.

[38] 邓子威.光合细菌对活性污泥微生物群落结构及代谢性能影响研究 [D]. 包头:内蒙古科技大学, 2023.
Deng Z W. Study on the effect of photosynthetic bacteria on the structure and metabolic performance of activated sludge microbial community [D]. Baotou: Inner Mongolia University of Science & Technology, 2023.

[39] Yang B, Liang W F, Bin L Y, et al. Insights into the life-cycle of aerobic granular sludge in a continuous flow membrane bioreactor by tracing its heterogeneous properties at different stages [J]. Water Research, 2023,243:120419.

[40] Liu H Y, Zhu L Y, Tian X H, et al. Seasonal variation of bacterial community in biological aerated filter for ammonia removal in drinking water treatment [J]. Water Research, 2017,123:668-677.

[41] Lu D C, Wang F Q, Amann R I, et al. Epiphytic common core bacteria in the microbiomes of co-located green (Ulva), brown (Saccharina) and red (Grateloupia, Gelidium) macroalgae [J]. Microbiome, 2023, 11(1):126.

[42] Wu D Q, Zhao B, Zhang P, et al. Insight into the effect of nitrate on AGS granulation: Granular characteristics, microbial community and metabolomics response [J]. Water Research, 2023,236:119949.

[43] Zhao Y P, Feng Y, Li J Q, et al. Insight into the aggregation capacity of anammox consortia during reactor start-up [J]. Environmental Science & Technology, 2018,52(6):3685-3695.

[44] Zhou Y H, Xu C G, Yang Y B, et al. Histidine metabolism and IGPD play a key role in cefquinome inhibiting biofilm formation of *Staphylococcus xylosus* [J]. Frontiers in Microbiology, 2018,9:665.

作者简介：安宇晨(2000-),女,河北邯郸人,重庆大学硕士研究生,研究方向为污水生物处理技术.发表论文 1 篇.aycgps@163.com.