周鹏宇,黄 亮,檀鑫泽,等.微纳米气泡产 ROS 规律及其对藻灭活机理分析 [J]. 中国环境科学, 2025,45(12):6681-6693.
Zhou P Y, Huang L, Tan X Z, et al. Mechanistic insights into algal degradation induced by ROS generated from MNBs [J]. China Environmental Science, 2025,45(12):6681-6693.

微纳米气泡产 ROS 规律及其对藻灭活机理分析

周鹏宇[1,2],黄 亮[3],檀鑫泽[1,2],李耀华[1,2],罗 俊[1,2],陈红凤[1,2*] (1.三峡大学水利与环境学院,湖北 宜昌 443002；2.三峡大学三峡库区生态环境教育部工程研究中心,湖北 宜昌 443002；3.宜昌市耕地质量和肥料管理站,湖北 宜昌 443002)

摘要：本研究分析了不同环境条件下微纳米气泡(MNBs)生成活性氧(ROS)的规律与影响因素,并进一步研究了 ROS 在小球藻失活中的作用机制.结果表明,较高气流量、长曝气时间和较大水深条件下更有利于 ROS 的产生,其中羟基自由基(·OH)是 MNBs 主要的活性物种.灭活实验表明,与常规臭氧气泡(O_3)相比,O_3-MNBs 产生更多的 ROS 可进一步诱导小球藻细胞膜氧化损伤,加速胞内蛋白和核酸泄漏,最终导致藻体裂解.ROS 抑制实验进一步证实·OH 是小球藻细胞膜损伤的关键驱动力.本研究揭示了 MNBs 产 ROS 的规律及影响因素,并阐明了 MNBs 对藻的灭活效能及机理,为富营养化水体治理提供了理论支持.

关键词：微纳米气泡；活性氧物种(ROS)；富营养化水体；藻降解
中图分类号：X703 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)12-6681-13

Mechanistic insights into algal degradation induced by ROS generated from MNBs. ZHOU Peng-yu[1,2], HUANG Liang[3], TAN Xin-ze[1,2], LI Yao-hua[1,2], LUO Jun[1,2], CHEN Hong-feng[1,2*] (1.College of Hydraulic & Environmental Engineering, China Three Gorges University, Yichang 443002, China；2.Engineering Research Center for the Eco-Environmental Protection of the Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, China Three Gorges University, Yichang 443002, China；3.Yichang Cultivated Land Quality and Fertilizer Management Station, Yichang 443002, China). *China Environmental Science*, 2025,45(12)：6681~6693

Abstract：Eutrophication-induced algal blooms significantly disrupt the stability of aquatic ecosystems. Micro-nano bubbles (MNBs), which generate reactive oxygen species (ROS) upon self-collapse, exhibit strong oxidative capability and hold great promise for water pollution control. This study investigates the patterns and impact factors of ROS generation by MNBs under various environmental conditions, and further explores the role of ROS in the degradation of Chlorella. The results demonstrate that higher gas flow rates, longer aeration times, and greater water depths favor the generation of ROS, with hydroxyl radicals (·OH) identified as the primary active species. Degradation experiments reveal that, compared to conventional ozone bubbles (O_3), O_3-MNBs produce a higher yield of ROS, which further induce oxidative damage to the Chlorella cell membrane, leading to accelerated leakage of intracellular proteins and nucleic acids, and ultimately causing cell lysis. ROS inhibition studies confirm that ·OH is the key driver of cell membrane damage in Chlorella. This study provides insights into the generation mechanisms of ROS by MNBs, elucidates their roles in algal inactivation, and offers valuable theoretical support for the management of eutrophic water bodies.

Key words：micro-nano bubbles；reactive oxygen species (ROS)；eutrophication；algal degradation

水体富营养化是全球范围内的生态环境问题,主要表现为藻类的异常繁殖,水质恶化、溶解氧降低、生物多样性下降[1-3].富营养化的主要诱因是水体中氮、磷等营养元素过量积累[4],从而导致藻类大量繁殖,不仅影响水生态系统的稳定性[5],还可能产生藻毒素等污染物,威胁水环境安全[6].传统的水处理技术,如化学沉淀、生物降解、物理气浮打捞等,在控制微生物如藻类等方面存在一定的局限性.化学方法虽能快速去除藻类,但可能引入二次污染,如化学药剂的残留[7];生物降解技术通常具有较长的处理周期,并伴随较高的运行成本[8];物理方法如气浮法虽适用于低浓度悬浮体系,但需化学絮凝剂辅助,可能造成二次污染,且难以有效净化水体[9].因此,开发高效、环保的藻类去除技术成为当前水处理领域的重要研究方向.

近年来,微纳米气泡(MNBs)因其独特的理化特性在水处理领域引起了广泛关注.MNBs 具有较高的比表面积、较长的驻留时间[10-12],可以更好地吸附介质中的离子,在气泡表面形成离子层,随微气泡直

收稿日期：2025-04-21
基金项目：国家自然科学基金青年基金(42007020)
* 责任作者, 副教授, hongfeng.chen@139.com

径减小而不断升高的内部压力,使得气泡内的气体更加迅速地溶于水中,气泡表面双电层电荷密度不断升高(图 1)[13-15].MNBs 自我收缩、崩塌瞬间释放能量,促使水分解产生大量 ROS[16],使其在污染物降解、氧化还原反应以及水生态修复中展现出良好的应用前景.其中,臭氧微纳米气泡(O_3-MNBs)作为一种新型的高级氧化技术,因其能够高效产生 ROS[17-18],其可能对藻类灭活具有显著效果. O_3-MNBs 作用灭活机制主要依赖于臭氧和活性氧的强氧化性[17-20],因此强氧化性物质可能破坏藻类细胞膜结构,使细胞内藻类细胞中的生物大分子,如蛋白质、脂类和核酸等泄漏,进而导致藻类死亡.MNBs 在自然水体中广泛存在,主要来源于内源释放和水生植物的光合作用和呼吸作用[21-22].因此微纳米气泡(MNBs)因其可自我破裂产生活性氧(ROS)物种具有较强氧化能力, 在水体污染治理中展现出巨大的应用潜力. 然而目前研究多关注于气泡释放,关于气泡破裂诱导 ROS 物种产生及其对藻细胞的灭活作用关注较少,导致 MNBs 应用于水华防控仍存在困难.

MNBs 因其传质效率高和 ROS 生成能力,在水华防控中具有应用潜力.已有研究表明,O_3-MNBs 可改善水体溶解氧,而 O_3-MNBs 在藻类灭活和胞外有机质降解方面更具优势.但现阶段对 O_3-MNBs 产 ROS 规律及其在藻类灭活中的作用机制认识不足. 本研究系统考察气源、气泡类型、气流量、曝气时间和水深等条件对 ROS 生成的影响,解析 O_3-MNBs 介导的藻类灭活路径及细胞损伤机制,并通过 ROS 抑制实验量化 ROS 的贡献,为 O_3-MNBs 在藻华治理中的高效应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

试剂:水杨酸、叔丁醇(TBA)、硝基蓝四唑盐(NBT)、二苯基苯并呋喃(DPBF)和碘化钾(上海麦克林生化科技股份有限公司,分析纯);钼酸铵、碘和无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司,分析纯);PBS 缓冲液(Biosharp);丙酮(成都市科隆化学品有限公司,分析纯);MDA 含量试剂盒(江苏连云港伊势久生物科技有限公司);BG11 培养基(青岛海博生物技术有限公司).实验用水均为超纯水.

仪器:微纳米气泡发生装置(ZJC-NM-200L,上海众净环保科技有限公司);臭氧发生器(CF-G-3-50,山东志伟环保科技有限公司);紫外-可见分光光度计(UV-1900PC,上海翱艺仪器有限公司);藻类自动分类计数仪(AlgaeAC-PF1,杭州万深检测科技有限公司);碳氮元素分析仪(multiN/C 3100, 德国 Analytik Jena);空气泵(SB-708,中山市松宝电器有限公司);人工气候箱(YM30LII,上海三申医疗器械有限公司);立式压力蒸汽灭菌器(YM50FGN,上海三申医疗器械有限公司);氮气瓶和氧气瓶(纯度 99%,宜昌沙河气体厂);高速摄像机(千眼狼 X150M/C,合肥君达高科信息技术有限公司).

1.2 MNBs 形成 ROS 规律实验

1.2.1 形成 ROS 的关键影响因素 为系统探讨不同环境因素下 MNBs 形成 ROS 的规律,设置了不同气源类型和气泡种类、气流量、水体深度和曝气时间五个关键变量.试验在中性 pH 值和室温条件下进行,以超纯水为反应基质.试验过程中,向亚克力反应容器中加入 5L 超纯水,并分别将 MNBs 发生装置连接至氧气瓶、氮气瓶、空气泵或臭氧发生装置,如图 1 所示.本研究所用反应器为定制亚克力圆柱桶,尺寸为高 2μm、直径 0.4μm. 反应器在 0,0.4,0.8,1.2,1.6 和 2.0μm 高度处均设有取样口,方便不同深度水样的采集与分析.气泡发生器的进出口均设置于反应器底部(0μm 水深处),以保证气体自底部均匀释放并在水体中充分传质. 实验过程中气体压力控制在 0.38MPa,以维持稳定的气泡生成和输送效率.

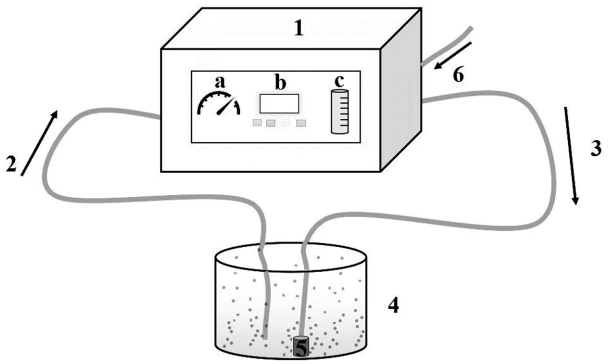


图 1 MNBs 形成与灭活藻装置

Fig.1 MNBs generator coupling with algae degradation

1-微纳米气泡发生装置(a-压力表; b-数控面板;c-气体流量计);2-进水管;3-出水管;4-反应容器; 5-微纳米气泡释放器;6-进气口

(1)气源类型及气泡种类

为探究气源类型对 ROS 产率的影响,本研究选取 O_3、O_2、Air 和 CO_2 作为不同气源.其中 O_3 由 Air 经臭氧发生器产生,因其具有较强氧化性,预期具有最高的 ROS 产率; CO_2 不具备氧化性,且溶解度较高,通入水中后整体反应环境较为稳定,作为非氧化性气体代表设为对照,用以评估非氧化性气体对 ROS 生成的影响.此外,为比较气泡种类对 ROS 形成的作用,实验对直径 D<50μm 的微纳米气泡(图 2(a))与 D≥50μm 的常规气泡(图 2(b))进行了对比分析.常规气泡采用传统曝气方式,即将曝气石直接置于反应溶液底部,其他实验条件与 MNBs 实验保持一致,以确保变量控制的严谨性.

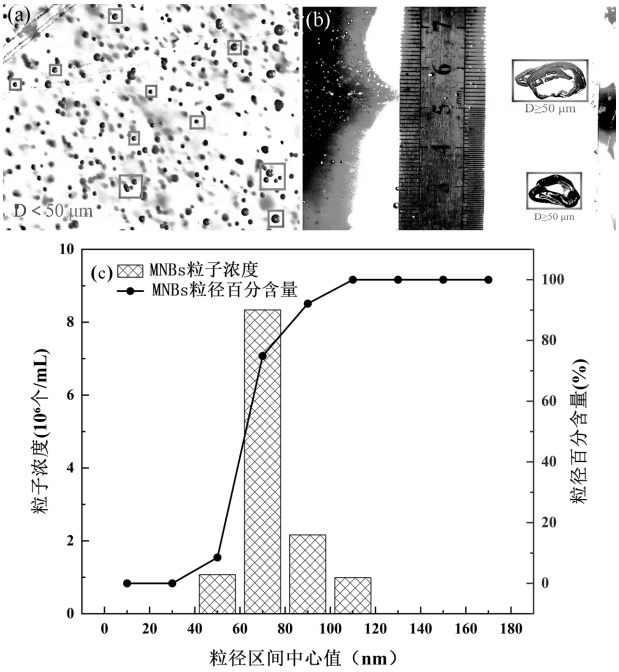


图 2　典型气泡形态与 MNBs 的粒径特征

Fig.2　Typical bubble morphology and particle-size characteristics of MNBs

(a) MNBs 气泡,D<50μm (b)常规气泡,D>50μm(c) MNBs 粒径分布

(2)气流量

为明确不同气流量对 ROS 生成特性的影响,在曝气时间固定为 1h 条件下,设置了 50,100,150 和 200mL/min 四种气流量,考察气流量对 ROS 产率的调控效应.

(3)曝气时间

为分析曝气时间对 ROS 生成的动态变化特征,在气流量保持为 150mL/min 的条件下,设置不同时间点 0,1,3,5,7,10,20,30 和 60min 取样,评估 ROS 浓度随曝气时间的演变规律.

(4)水体深度

在曝气时间与气流量分别固定为 1h 和 150mL/min 基础上,通过在距反应器底部不同深度 0,0.4,0.8,1.2,1.6 和 2.0m 进行分层取样,探讨水体深度对 ROS 生成过程的影响.

1.2.2　ROS 检测　采用化学捕获法定量检测羟基自由基(·OH)、单线态氧($^1O_2$)、超氧阴离子(O_2^-)及过氧化氢(H_2O_2)的生成量.具体方法如下:·OH 采用水杨酸作为 ROS 淬灭剂,并在 510nm 处测定其吸光度[23];$^1O_2$ 通过吲哚氨基萘(DPBF)作为 ROS 荧光探针的荧光猝灭法检测,测定其在 410nm 处吸光度并取绝对值[24];O_2^-采用硝基蓝四唑(NBT)作为 ROS 显色探针,在 560nm 波长处定量分析[25];H_2O_2 通过碘化钾−钼酸铵作为 ROS 显色探针,测定在 352nm 波长下的吸光度[26].实验过程中,将上述各类捕获剂分别直接加入至反应器溶液中,循环一定时间后取样,并于相应波长下测定吸光度.并绘制动力学曲线,以明确不同参数对 ROS 生成的影响,从而优化 MNBs 诱导 ROS 生成条件.

1.3　小球藻灭活实验

小球藻是水体富营养化的关键指示物种之一[27],本研究以小球藻为研究对象,模拟富营养化水体,分析不同环境条件下 O_3−MNBs 对富营养化水体关键藻类的灭活效果,设置不同处理时间 0,5,10,15,20,30,40,60min 进行灭活实验.测定藻类密度、叶绿素 a(Chl−a)、溶解性有机碳(DOC)、藻类细胞损伤的生化标志物等指标衡量细胞膜氧化损伤以及蛋白质和核酸泄露情况,以考察细胞膜通透性变化,探讨 MNBs 灭活藻细胞的机制.

此外,为了进一步探究 ROS 在含藻水体灭活过程中的具体贡献,实验中引入 ROS 抑制剂叔丁醇(TBA),该物质可特异性抑制·OH[28].在 O_3−MNBs 处理组中加入 TBA,并与未添加抑制剂的 O_3−MNBs 组进行对比.实验过程中,同样检测藻类密度、Chl−a、TOC 及细胞损伤相关指标,分析 TBA 的加入是否降低灭活效率或改变灭活模式.如果抑制剂的存在显著减少藻类灭活效果,则表明·OH 在灭活过程中发挥了重要作用.

2 结果与讨论

2.1 ROS 生成规律及影响因素分析

2.1.1 气源类型和气泡种类对 ROS 形成的影响 不同气源类型和气泡种类产生的 ROS 结果如图 3 所示,MNBs 产生的 ROS 显著高于常规气泡,特别是 O_2-MNBs 较常规气泡产生的 ROS 物种增加幅度最大,表明 MNBs 技术在促进 ROS 生成方面具有明显优势.O_3-MNBs 可通过电荷转移、气泡界面反应等多种机制生成·OH、O_2^-和 $^1O_2$ 等活性氧物种[29-30].O_3-MNBs 产生的 ROS 含量最高,但与常规气泡差异较小.其原因是 O_3 本身具有强氧化性,其在微纳米尺度下与水中污染物或溶解物质反应活性增强,能够生成大量 ROS[31].Air-MNBs 尽管仍可生成 ROS,但由于其 O_2 含量较低,ROS 生成效率略逊于纯 O_2 和 O_3,且该趋势与已有研究结果一致[32].CO_2-MNBs 的 ROS 生成量最少, 原因主要可能包括两个方面:一方面,CO_2 气泡具有较高的溶解性,易于在水中发生物理溶解并以 CO_2(aq)形式扩散至水体中[33-34];而非通过气泡破裂促进 ROS 生成;另一方面,CO_2 本身不具氧化性,且其在水中后续经历水合(生成 H_2CO_3)及电离反应(生成 H^+与 HCO_3^-)过程,虽能导致水体酸化,但对 ROS 生成无显著促进作用[35-36].此外,由于二氧化碳本身的氧化性较弱,这进一步限制了其 ROS 的生成量[37].

综上所述,MNBs 相较于常规气泡展现出更优异的 ROS 生成能力.其微小尺寸与高比表面积显著提高了气液界面传质效率,同时较长的停留时间增强了气泡与水体的反应性.此外,MNBs 释放过程中所引发的局部流动扰动亦可能促进 ROS 的生成与稳定性[16].上述特性共同促进了 MNBs 在水处理领域中的广泛应用前景.

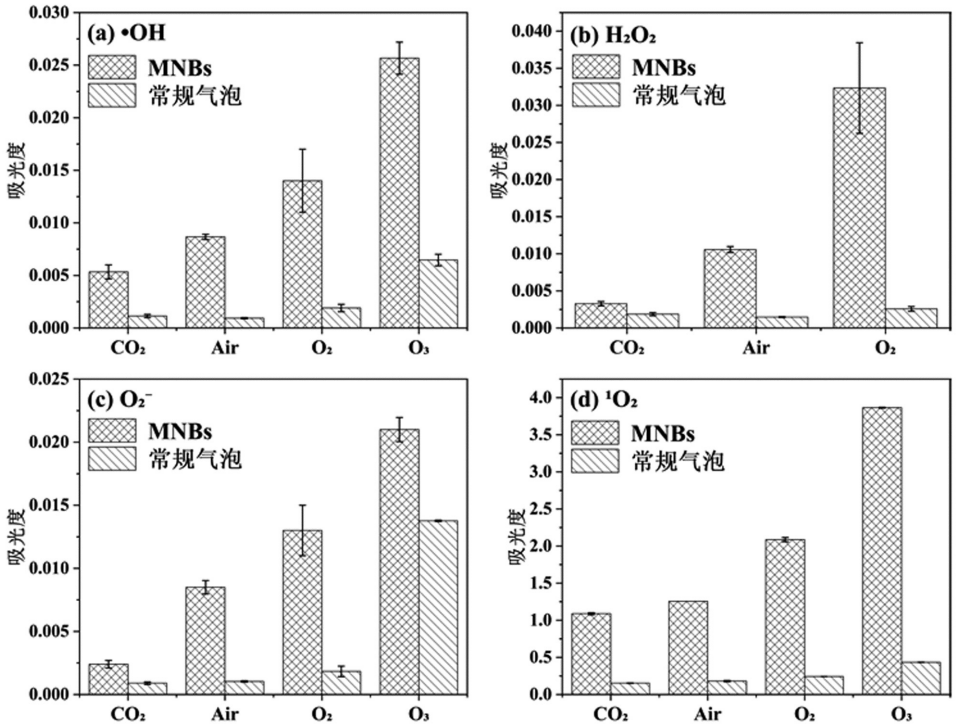


图 3 气源和气泡类型对 ROS 形成的影响

Fig.3 Effect of gas source and bubble type on ROS formation

2.1.2 气流量和曝气时间对 ROS 形成的影响 不同通气流量条件下,Air 和 O_2-MNBs 产 ROS 结果如图 4 所示.总体上,ROS 的生成量随气流量增加而上升,但各类 ROS 的响应幅度存在差异.其中,·OH、H_2O_2 和 $^1O_2$ 在气流量超过 150mL/min 后趋于平稳,仅 O_2^-呈持续增长趋势.随气流量增加,气体在水体中的溶解逐步趋于饱和[38],进一步提升气流量对溶解氧或臭氧浓度的促进作用有限,从而制约了 ROS 产量.此外,较高气流量可能导致大气泡比例上升,加快上浮速度,缩短气液界面接触时间,削弱了微纳气

泡增强 ROS 生成的优势[39].同时,·OH 与 $^1O_2$ 的生成速率还可能受限于反应动力学.当底物浓度达到一定水平后,反应趋于饱和,而该类 ROS 又因寿命极短,难以长期累积[40-41].相比之下,O_2^-主要通过氧气的电子还原生成,随气流量增加,体系中氧气浓度和电子供体的接触频率提升,其生成过程不受上述因素限制[42],因此表现出持续增长趋势.

此外,O_2–MNBs 的 ROS 生成效率优于 Air–MNBs.在相同气流量条件下,O_2–MNBs 产生的·OH 浓度较 Air–MNBs 提升了 73%.可能是由于较高气流条件下气泡破裂频率和能量释放增强,有利于水分子的裂解反应[43-44],从而提升了·OH 生成效率.在 H_2O_2 生成方面,Air–MNBs 在 150mL/min 后趋于平缓,而 O_2–MNBs 仍呈上升趋势,说明富 O_2 环境下 O_2^-歧化反应更为活跃.O_2^-产量也随气流量提升持续增加,且 O_2–MNBs 增长幅度明显高于 Air–MNBs,进一步印证了富 O_2 条件有助于增加 ROS 产量.$^1O_2$ 的生成亦表现出强烈的气源依赖性,Air–MNBs 增幅为 66%,而 O_2–MNBs 超过 240%,说明 $^1O_2$ 的生成高度依赖气泡界面处的能量转移效应与氧气浓度.

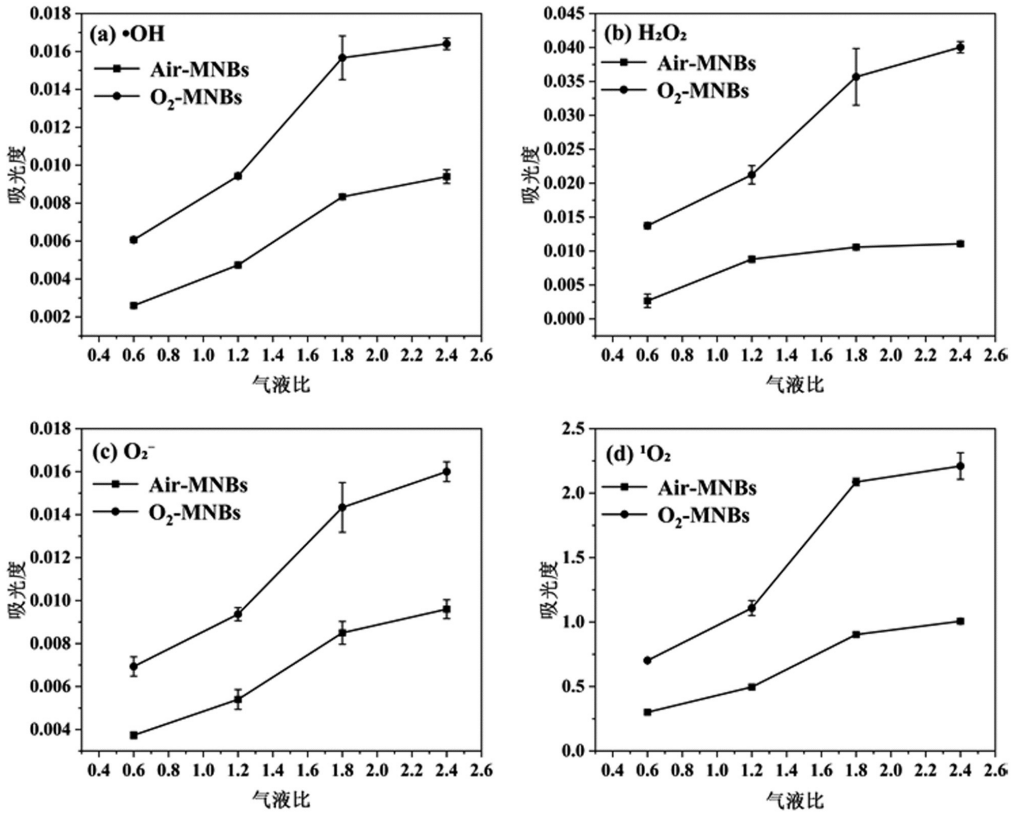


图 4　气流量对 ROS 形成的影响

Fig.4　Effect of gas flow rate on ROS formation

图 5 展示了曝气时间对 ROS 生成的影响.结果表明,随曝气时间增加,ROS 物种浓度呈线性递增,说明 ROS 物种的生成具有良好累积效应.曝气时间通过延长气泡与水体的接触过程,增强了气体的溶解度与气泡破裂频率,从而促进了 ROS 的生成[45].此外,随曝气时间增加,O_2–MNBs 产生的 ROS 的累积效应更为明显,进一步说明微纳米气泡曝气技术在驱动氧化反应方面的高效性.线性回归分析表明,随着曝气时间的延长,·OH、H_2O_2、O_2^-和 $^1O_2$ 的浓度呈现显著的线性增加,显示出曝气时间与 ROS 生成之间的强相关性.这一结果表明,微纳米气泡技术在驱动氧化反应中表现出了显著的累积效应,且随曝气时间增加,气泡与水体的接触增强,气体溶解度和气泡破裂频率也随之提高[46],从而促进了 ROS 的生成.

2.1.3　水体深度对 ROS 形成的影响　为系统分析不同水层中 ROS 的分布特征,于距离反应器底部 0、0.4,0.8,1.2,1.6 和 2.0m 处进行了分层取样.水深对

ROS 生成的影响如图 6,随着接近水面,ROS 物种生成量均显著上升,尤其是 $^1O_2$ 近线性增加.MNBs 在上升过程中,其与水体的接触时间延长,气体的溶解度增加,从而显著促进了 ROS 的生成[46].$^1O_2$ 的生成显著增加,这可能是由于水面附近气泡破裂频率和气体传递速率较高所致[47].气泡自水底上升至水面时,其在水中停留时间不断增长,增强了与水中溶解物质的反应机会,提高了 O_2 等气体的溶解率,提升了 ROS 的转化概率.近水面时,在浮力和压力作用下气泡破裂,破裂瞬间气液界面离子浓度骤升,同时伴随气泡内部高压气体的释放、局部气体过饱和、微射流及空泡塌陷现象[17,48-49],可形成瞬时高温高压微环境,促使水分子裂解,生成•OH 等高活性 ROS[50-51].此外,气泡破裂过程中可能发生电荷分离,产生局部瞬时电场,从而加速氧化还原反应[52].气泡内部气体的快速释放和扩散也进一步推动 ROS 的生成和传导,使水面附近的 ROS 浓度显著提升,增强了表层水体中的氧化反应效率.结果表明,较高浓度的 ROS 有助于提升污染物的降解效果,从而增强整体水质净化性能.

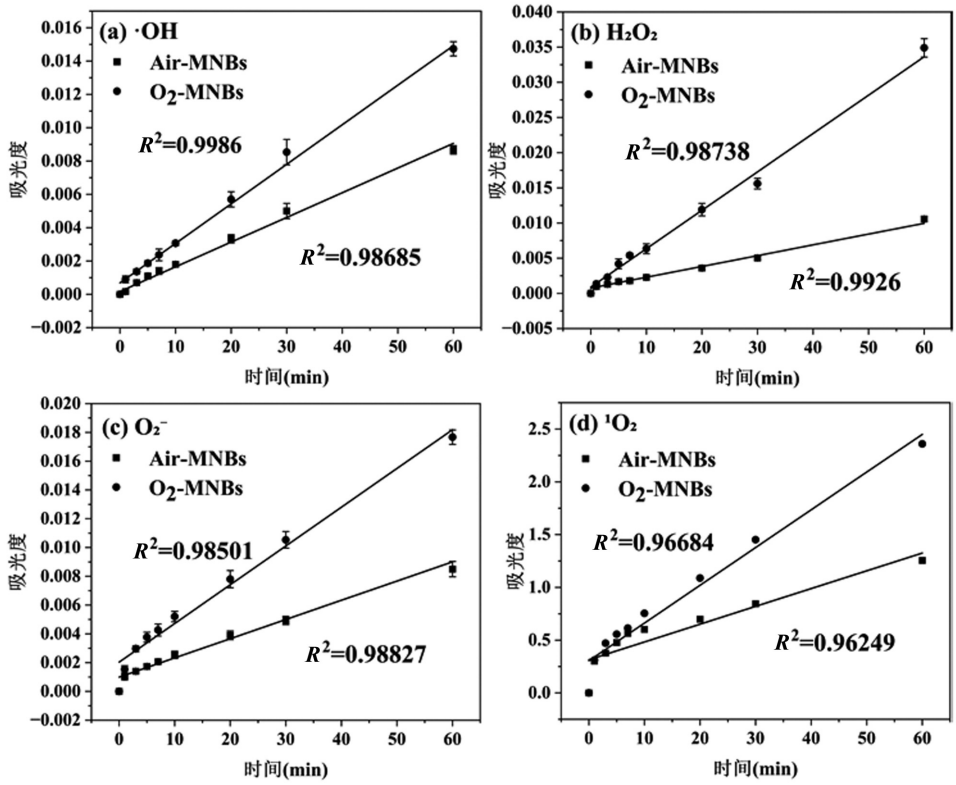
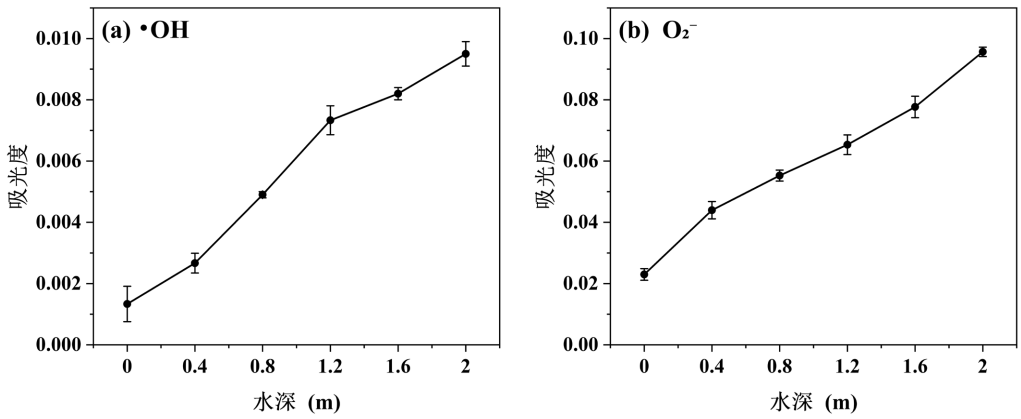


图 5 曝气时间对 ROS 形成的影响

Fig.5 Effect of aeration time on ROS formation



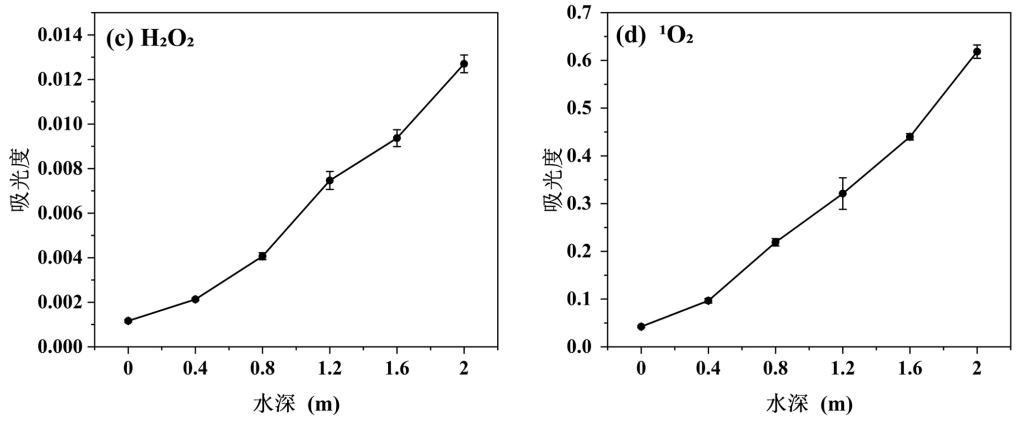


图 6　水深对 ROS 形成的影响

Fig.6　Effect of water depth on ROS formation

2.1.4　产ROS最优条件　对气源类型与气泡种类、气流量、曝气时间及水深对 ROS 生成及其氧化效果的影响进行了综合分析(图 7),以确定产 ROS 的最优条件.在以 O_2 为气源、气流量为 50~200mL/min 条件下,·OH、H_2O_2 和 O_2^-的生成量均与气流量显著正相关,$^1O_2$ 亦表现出较强相关性;气流量超过 150mL/min 后,ROS 生成速率趋于平缓.综合能耗与运行成本因素,确定 150mL/min 为最优气流量.曝气时间为 0~60min 区间内,ROS 物种浓度均随时间显著上升,并在 60min 实验设计时间内的峰值.综合能耗及操作效率等因素,表明 60min 为本实验中实现 ROS 高效累积的合理曝气时间.在水深 0~2.0m 范围内,各类 ROS 的浓度与水深呈显著正相关.可能是 MNBs 上升过程中持续经历界面反应,最终在水面破裂释放出高浓度 ROS,促使水面区域的氧化反应更为集中高效.此外,对比 O_3、O_2、Air 与 CO_2 在 MNBs 与常规气泡下的 ROS 生成能力,O_2−MNBs 在·OH、H_2O_2、O_2^-及 $^1O_2$ 生成方面均表现出最优性能,本研究验证了其在 ROS 生成的强大潜力.

综上,本研究确定的最优产 ROS 条件是 O_3 为气源、气流量 150mL/min、曝气时间 60min.该条件可有效提升 ROS 生成效率,增强 MNBs 氧化能力,为后续小球藻降解及水质净化应用提供了科学、可行的实验框架与理论支持.

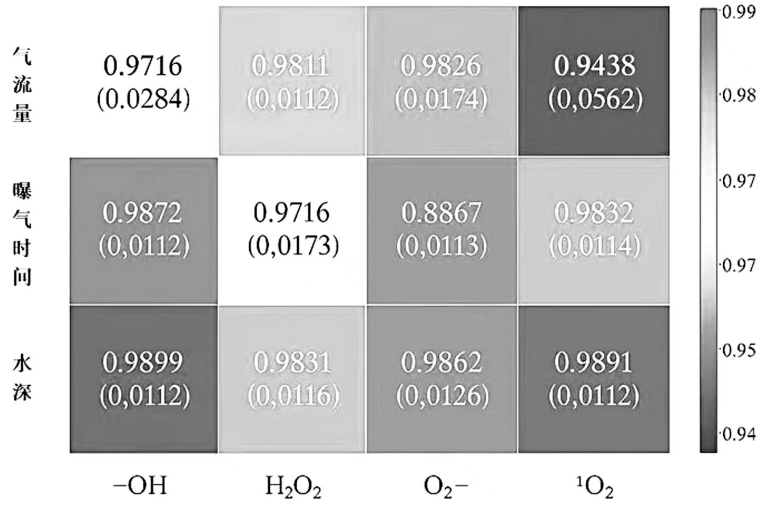


图 7　ROS 形成浓度与实验参数的相关性及显著性分析

Fig.7　Correlation and significance analysis between ROS concentration and experimental parameters

2.2　小球藻的灭活效率及机制

2.2.1　O_3−MNBs 降解效果分析　基于上述 MNBs 和常规气泡产 ROS 规律,进一步评估了 O_3−MNBs 对小球藻的灭活效果及作用机制.研究所用臭氧投

加量为 25mg/L,接近文献中报道的高浓度投加水平[53].藻密度、DOC、Chl-a 等作为衡量藻类灭活效率的重要指标,其变化如图 8 所示.曝气前 10min,O_3-MNBs 和常规 O_3 气泡处理小球藻的藻密度、DOC、Chl-a 浓度差异不大;曝气 10min 后,O_3-MNBs 处理组的藻密度、DOC、Chl-a 浓度显著低于常规 O_3 气泡处理组,灭活速率显著增加.说明 O_3-MNBs 在藻类快速去除方面具有明显优势,其灭活效果来源于 O_3 自身的氧化性和 MNBs 破裂瞬间产生的 ROS 物种.脂质过氧化产物 MDA 变化如图 9(a)所示,O_3-MNBs 处理的 MDA 浓度约为常规 O_3 气泡的两倍,反映出其对细胞膜的氧化破坏作用更强.此外,细胞核酸和蛋白质外泄情况表明,O_3-MNBs 处理显著提高了小球藻胞内物质释放,造成了细胞膜的破坏,促使藻细胞裂解与凋亡更为彻底.可见,O_3 及 ROS 的氧化作用是直接作用于藻细胞膜,致其裂解、凋亡释放藻细胞有机物,并进一步降解藻细胞有机物,实现净化水质目的.

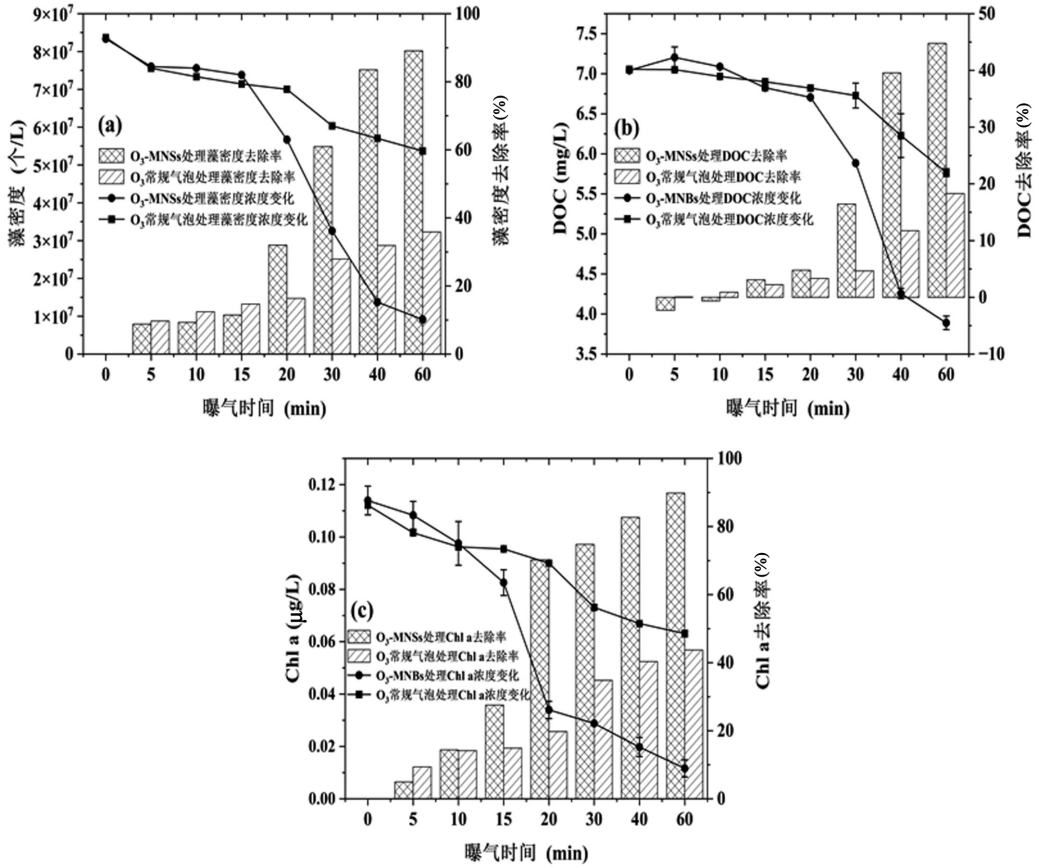
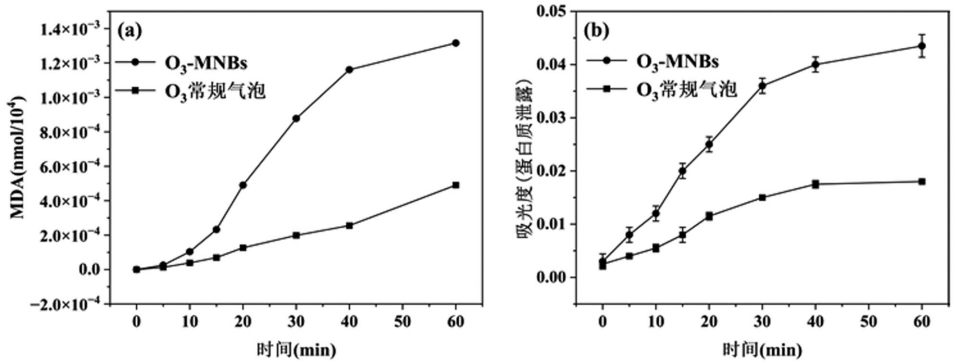


图 8 不同处理方式对小球藻生物量及可溶性有机碳浓度的影响

Fig.8 Effect of different treatment methods on Chlorella biomass and dissolved organic carbon concentration



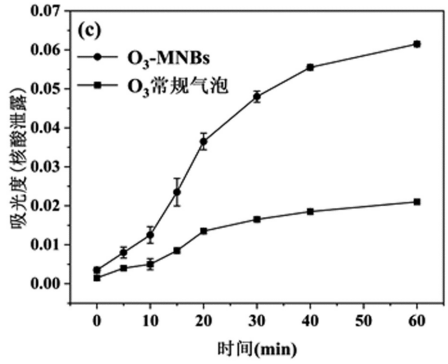


图 9　不同处理方式对小球藻细胞膜氧化损伤及通透性变化的影响

Fig.9　Effect of different treatment methods on oxidative damage and permeability of Chlorella cell membrane

O_3−MNBs 的增强效应可归因于多重机制.一方面,MNBs 具备更大的气液界面和更高的气体溶解度,显著提升传质效率,并在崩解过程中大量释放 ROS[54-55];另一方面,O_3 本身具强氧化性,能直接破坏藻类细胞膜,使 Chl−a 迅速分解,其对微生物结构的破坏机制亦已有系统研究支持[56].此外,水力空化通过气泡坍塌产生的高温高压可诱导·OH 等高活性自由基生成,臭氧微泡则借助其界面效应促进臭氧分解,从而显著提升 ROS 产量并增强藻类细胞的氧化失活效率[57-58].因此,O_3−MNBs 技术在小球藻灭活中展现出显著优越性,表现为:更快速高效的 Chl−a 降解、更彻底的藻类裂解、更强的胞内有机物氧化能力以及更剧烈的细胞膜氧化损伤.相较于传统 O_3 曝气方式,O_3−MNBs 提供了一种更具氧化潜力和水质净化价值的处理方案.

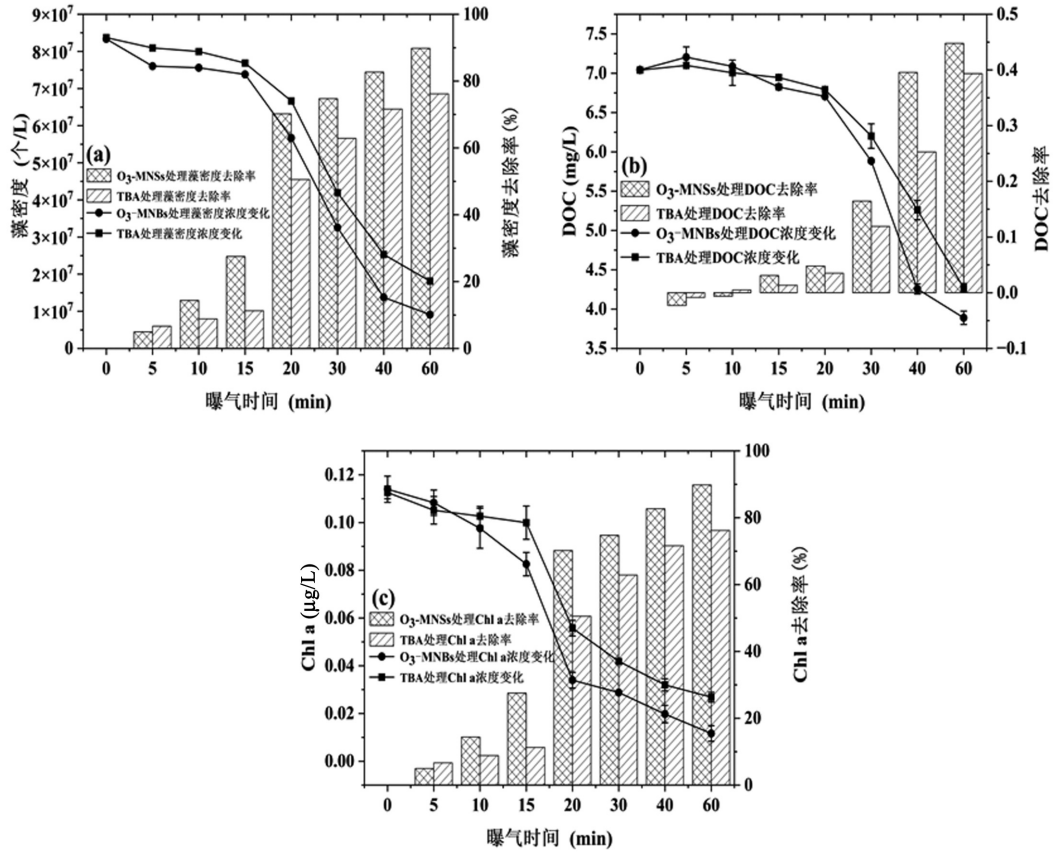


图 10　ROS 对小球藻降解性能的影响

Fig.10　Effect of ROS on the degradation performance of Chlorella

2.2.2 ROS 在藻类灭活过程中的作用及影响因素 本研究通过引入 TBA 作为·OH 猝灭剂,探讨了·OH 在小球藻灭活过程中的作用.TBA 可有效抑制·OH 的活性[59],从而揭示其对小球藻灭活的贡献.添加 TBA 后,MNBs 对藻密度、DOC、Chl-a 的灭活效率均有下降(图 10).已有研究指出[60],·OH 可直接氧化叶绿素分子,加速其结构破坏与分解,进一步印证了上述结果.在未添加 TBA 情况下,DOC 降解速率更快,推测·OH 通过攻击有机物分子,加速其氧化分解[61];TBA 添加后,DOC 去除效果减弱,进一步佐证·OH 在藻类灭活中的重要性.添加 TBA 后,MDA、核酸和蛋白质的泄漏量均减少(图 11),特别是核酸和蛋白质的泄漏量积累速率显著减缓,说明·OH 是导致膜脂过氧化的主要因子,对藻细胞膜损伤起关键作用.

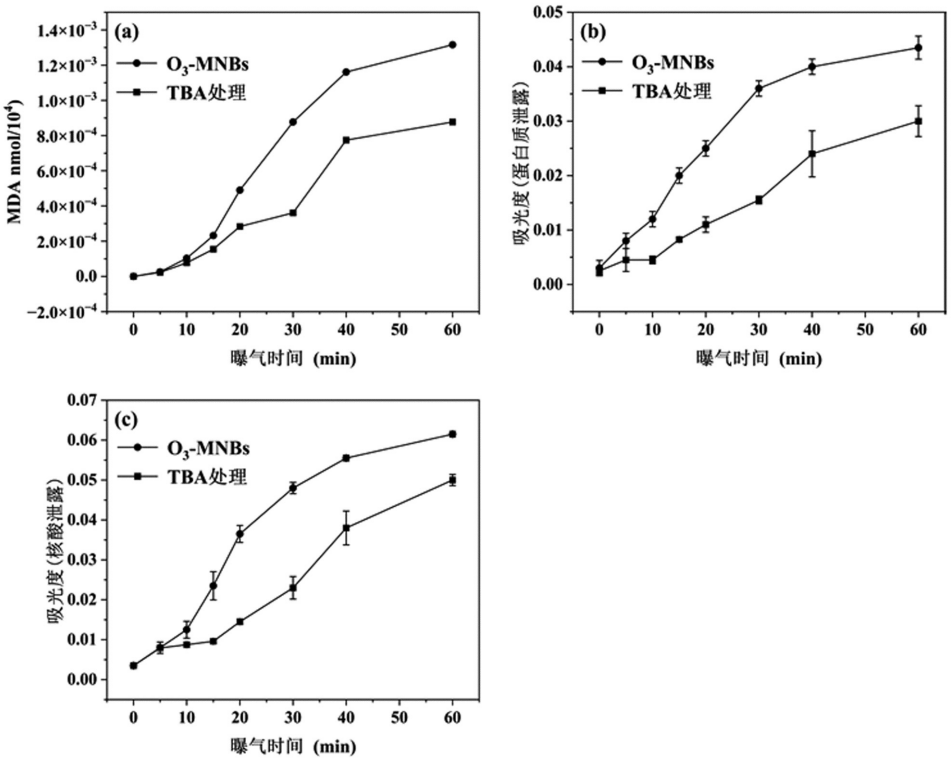


图 11 ROS 对小球藻细胞膜完整性的影响

Fig.11 Effect of ROS on the integrity of Chlorella cell membrane

·OH 生成量的增加伴随着细胞内蛋白质和核酸的显著泄漏,表明·OH 通过氧化细胞膜,破坏其结构完整性,导致细胞内容物的释放.蛋白质泄漏反映了细胞膜功能的丧失[62],而核酸泄漏进一步证明了·OH 对细胞核的破坏,可能导致细胞遗传信息的丧失[63].MDA 含量的显著增加则进一步表明了细胞膜脂质的过氧化损伤[64],随着·OH 生成量的增加,MDA 水平显著升高,表明膜脂质氧化反应的加剧.这些结果表明,·OH 在藻类灭活过程中发挥主导作用,通过氧化损伤细胞膜,加速细胞内物质的泄漏,从而促进藻类的失活.MDA 变化的显著性进一步证实了·OH 在细胞膜氧化损伤中的关键作用.因此,·OH 是微纳米气泡诱导藻类氧化失活的核心因素之一.

3 结论

3.1 ROS 的形成受到气泡类型、气源、气流量、曝气时间和水深等环境因素的显著影响.在气泡类型为 MNBs,气源为 O_3,气流量为 150mL/min,曝气时间为 60min,水面环境的情况下,ROS 的生成量最大,且·OH 为主要活性物种.

3.2 O_3-MNBs 在小球藻降解中表现出显著的优势.与常规 O_3 气泡处理相比,O_3-MNBs 显著降低了藻密度、DOC 和 Chl-a 浓度,且降解速率显著提高.O_3-MNBs 的降解效果来源于 O_3 的强氧化性和 MNBs 破裂释放的 ROS 物种.O_3-MNBs 还导致更强

的细胞膜氧化损伤和细胞内物质的外泄,促进了藻细胞裂解与凋亡.MNBs 的高气液界面和 O_3 的强氧化性共同作用,使 O_3−MNBs 在水质净化中展现出更高的氧化潜力和处理效率.

3.3　·OH 在 MNBs 灭活小球藻中发挥了关键作用.添加 TBA 后,MNBs 对藻密度、DOC 和 Chl−a 的处理效率显著下降,表明·OH 对藻类降解具有促进作用.·OH 通过氧化细胞膜成分,导致膜损伤和细胞内容物泄漏,从而加速藻类降解.蛋白质和核酸泄漏,以及 MDA 含量增加,均证实·OH 引起了膜脂质的过氧化损伤.无 TBA 时,·OH 生成的增强效应显著促进了有机物的分解,揭示了·OH 在细胞膜破坏和内容物释放中的核心作用.因此,·OH 是 MNBs 灭活藻类的关键影响因素.

3.4　MNBs 能够有效产生 ROS,在藻类去除方面表现出显著效果,具有良好的应用潜力.O_3−MNBs 通过强氧化性降解有害物质,O_2−MNBs 则提升水体的溶解氧,增强自净能力.MNBs 技术有望成为水体修复的新途径,广泛应用于湖泊、河流等自然水体的自净和污染治理中,推动生态修复与水环境保护的进展.

参考文献：

[1] Yang F, Wang H, Bouwman A F, et al. Nitrogen from agriculture and temperature as the major drivers of deoxygenation in the central Bohai Sea [J]. Science of the Total Environment, 2023,893:164614.

[2] Xu H, McCarthy M J, Paerl H W, et al. Contributions of external nutrient loading and internal cycling to cyanobacterial bloom dynamics in Lake Taihu, China: Implications for nutrient management [J]. Limnology and Oceanography, 2021,66:1492–1509.

[3] Barrera-Alba J J, Moser G A O. Short-term response of phytoplankton community to over-enrichment of nutrients in a well-preserved sub-tropical estuary [J]. Brazilian Journal of Oceanography, 2016,64: 191–196.

[4] 马 凯, 王效昌, 谢嘉慧, 等. 沉积物解磷菌的研究进展：分布、解磷能力及功能基因 [J]. 农业资源与环境学报, 2023,40(2):280−290.
Ma K, Wang X C, Xie J H, et al. Research progress on phosphorus-solubilizing bacteria in sediments: distribution, phosphorus-solubilizing ability and functional genes [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2023,40(2):280–290.

[5] Hussein R M, Şen B, Sönmez F. Eutrophication process and water quality indices [J]. International Journal of Engineering Technologies and Management Research, 2019,6(9):76–83.

[6] Kelly L T, Bouma-Gregson K, Puddick J, et al. Multiple cyanotoxin congeners produced by sub-dominant cyanobacterial taxa in riverine cyanobacterial and algal mats [J]. PLoS ONE, 2019,14:e0220422.

[7] 陈轶群.紫外/过硫酸盐除藻及对消毒副产物生成影响研究 [D]. 武汉:华中科技大学, 2017.
Chen Y Q. Study on UV/persulfate algae removal and its influence on disinfection by-products [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2017.

[8] 侯　成.化工废水中典型环状有机污染物的强化生物降解方法和机理 [D]. 南京:南京理工大学, 2021.
Hou C. Enhanced biodegradation methods and mechanisms for typical cyclic organic pollutants in chemical wastewater [D]. Nanjing: Nanjing University of Science and Technology, 2021.

[9] Lv B H, Liu X Y, Zhou Z M, et al. Catalytic ozonation of Reactive Red 195 in aqueous solution over a cobalt/aluminum oxide-ceria catalyst [J]. Processes, 2023,11:2141.

[10] Li H, Hu L, Xia Z. Impact of groundwater salinity on bioremediation enhanced by micro-nano bubbles [J]. Materials, 2013,6:3676–3687.

[11] Uchida T, Liu S, Enari M, et al. Effect of NaCl on the lifetime of micro- and nanobubbles [J]. Nanomaterials, 2016,6(1):31.

[12] 樊　凯,王方正,管　楠,等.微纳米气泡表征及其抑制膜污染研究 [J]. 中国环境科学, 2024,44(6):3197−3205.
Fan K, Wang F Z, Guan N, et al. Characterization of micro-nano bubbles and their inhibition on membrane fouling [J]. Chinese Environmental Science, 2024,44(6):3197–3205.

[13] Fein J B, Boily J F, Yee N, et al. Potentiometric titrations of Bacillus subtilis cells to low pH and a comparison of modeling approaches [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2005,69:1123–1132.

[14] Li P, Tsuge H. Ozone transfer in a new gas-induced contactor with microbubbles [J]. Journal of Chemical Engineering of Japan, 2006,39 (10):1213–1220.

[15] Yasui K, Tuziuti T, Kanematsu W. Mysteries of bulk nanobubbles (ultrafine bubbles): stability and radical formation [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2018,48:259–266.

[16] Nachael M, Li P, Salum K, et al. Micro and nanobubbles aided membrane processes [J]. African Journal of Environmental Science and Technology, 2024,18(3):110–120.

[17] Takahashi M, Chiba K, Li P. Free-radical generation from collapsing microbubbles in the absence of a dynamic stimulus [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2007,111(6):1343–1347.

[18] Wang T, Yang C, Sun P, et al. Generation mechanism of hydroxyl free radicals in micro–nanobubbles water and its prospect in drinking water [J]. Processes, 2024,12(4):683.

[19] Chen Z, Liu X, Cheng X, et al. Dissipation of eutrophic substances in grass carp aquaculture pond water by ozone [J]. Water, 2023,15(17): 3167.

[20] Hutagalung S S, Rafryanto A F, Sun W, et al. Combination of ozone-based advanced oxidation process and nanobubbles generation toward textile wastewater recovery [J]. Frontiers in Environmental Science, 2023,11:1154739.

[21] Hornbach D J, Schilling E G, Kundel H. Ecosystem metabolism in small ponds: the effects of floating-leaved macrophytes [J]. Water, 2020,12(5):1458.

[22] Li H, Hu L, Song D, et al. Characteristics of micro-nano bubbles and potential application in groundwater bioremediation [J]. Water Environment Research, 2014,86(9):844–851.

[23] Zhong W, Yang C, Zhang Y, et al. Effects of different deproteinization methods on the antioxidant activity of polysaccharides from Flos Sophorae Immaturus obtained by ultrasonic microwave synergistic extraction [J]. Agronomy, 2022,12(11):2740.

[24] Dülger Ö, Erdoğan A. Schiff base containing pyridine groups functionalized water-soluble phthalocyanine: Synthesis, photophysicochemical properties, and bovine serum albumin binding behavior [J]. Turkish Journal of Chemistry, 2022,46(5):1504–1515.

[25] Rauš Balind S, Selaković V, Radenović L, et al. Extremely low-frequency magnetic field (50 Hz, 0.5 mT) reduces oxidative stress in the brain of gerbils submitted to global cerebral ischemia [J]. PLoS ONE, 2014,9(2):e88921.

[26] 徐秀泉,戴杨叶,宴 鹤,等.碘化钾还原法测定自然水体中微量过氧化氢的研究 [J]. 安徽农业科学, 2011,39(23):13641−13643.
Xu X Q, Dai Y Y, Yan H, et al. Determination of trace hydrogen peroxide in natural water by potassium iodide reduction method [J]. Anhui Agricultural Science, 2011,39(23):13641–13643.

[27] 魏志兵,柴 毅,罗静波,等.长湖浮游植物优势种季节演替及生态位分析 [J]. 水生生物学报, 2020,44(3):612−621.
Wei Z B, Chai Y, Luo J B, et al. Seasonal succession and niche analysis of dominant phytoplankton species in Changhu Lake [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020,44(3):612–621.

[28] Simetić T, Nikić J, Kuč M, et al. New insight into the degradation of sunscreen agents in water treatment using UV-driven advanced oxidation processes [J]. Processes, 2024,12(5):1156.

[29] Zhao R, Li L, Wu Q, et al. Spontaneous formation of reactive redox radical species at the interface of gas diffusion electrode [J]. Nature Communications, 2024,15:1–10.

[30] Collin F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019,20(10):2407.

[31] 张 静,钱泽朋,刘 春,等.微气泡催化臭氧化酸性大红 3R 的性能及机理 [J]. 环境工程学报, 2021,15(4):1199−1208.
Zhang J, Qian Z P, Liu C, et al. Performance and mechanism of microbubble catalytic ozonation of Acid Red 3R [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021,15(4):1199–1208.

[32] Yusuf A, Asdak C, Muhaemin M, et al. The implementation of micro/nanobubbles (MNBs) technology to treat basin water as the primary water source for hydroponics in greenhouse [J]. Jurnal Teknik Pertanian Lampung (Journal of Agricultural Engineering), 2024,13(1): 197–204.

[33] Preibisch I, Ränger L M, Gurikov P, et al. In situ measurement methods for the CO_2-induced gelation of biopolymer systems [J]. Gels, 2020,6(3):28.

[34] 王巧芝.体相微纳米气泡的产生、性能及其模板化作用的研究 [D]. 济南:山东大学, 2020.
Wang Q Z. Generation, properties and templating action of bulk micro-nano bubbles [D]. Jinan: Shandong University, 2020.

[35] Luther III G W. Kinetics of the reactions of water, hydroxide ion and sulfide species with CO_2, OCS and CS2: Frontier molecular orbital considerations [J]. Aquatic Geochemistry, 2004,10:81–97.

[36] Knoche W. Chemical reactions of CO_2 in water [J]. Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide, 1980,1:3–11.

[37] 王雪青,左进华,闫志成,等.微纳米气泡技术的研究进展及其在果蔬采后的应用 [J]. 中国蔬菜, 2020,(9):19−24.
Wang X Q, Zuo J H, Yan Z C, et al. Progress in micro-nano bubble technology and its postharvest applications in fruits and vegetables [J]. China Vegetables, 2020,(9):19–24.

[38] Dassey A, Theegala C. Optimizing the air dissolution parameters in an unpacked dissolved air flotation system [J]. Water, 2012,4(1):1–11.

[39] 闫红杰,张河杨,刘 柳,等.气体流量和喷嘴直径对鼓泡塔内气泡大小和形状分布的影响 [J]. 中国有色金属学报(英文版), 2024,34(6): 1710−1720.
Yan H J, Zhang H Y, Liu L, et al. Effects of gas flow rate and nozzle diameter on bubble size and shape distribution in a bubble column [J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2024,34(6): 1710–1720.

[40] Cerqueira J V A, de Andrade M T, Rafael D D, et al. Anthocyanins and reactive oxygen species: a team of rivals regulating plant development? [J]. Plant Molecular Biology, 2023,112(4/5):213–223.

[41] Strohmeier W, Onoda T. Mechanismus der homogenen katalytischen Hydrierung von Maleinsäuredimethylester mit IrCl(CO) [P(C H)] [J]. Zeitschrift für Naturforschung B, 1969,24(11): 1493–1497.

[42] Murphy M P. How mitochondria produce reactive oxygen species [J]. Biochemical Journal, 2009,417(1):1–13.

[43] Matas J P, Hong M, Cartellier A. Stability of a swirled liquid film entrained by a fast gas stream [J]. Physics of Fluids, 2014,26(4): 042108.

[44] Ashfaq A, An J-C, Ulański P, et al. On the mechanism and kinetics of synthesizing polymer nanogels by ionizing radiation-induced intramolecular crosslinking of macromolecules [J]. Pharmaceutics, 2021,13(7):1047.

[45] 刘 春,张 磊,杨景亮,等.微气泡曝气中氧传质特性研究 [J]. 环境工程学报, 2010,4(3):585−589.
Liu C, Zhang L, Yang J L, et al. Oxygen mass transfer characteristics in microbubble aeration [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2010,4(3):585–589.

[46] Li H, Hu L, Song D, et al. Subsurface transport behavior of micro-nano bubbles and potential applications for groundwater remediation [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2014,11(1):473–486.

[47] Zhao Y, Liu Y, Xu Q, et al. Singlet oxygen generation on porous superhydrophobic surfaces: effect of gas flow and sensitizer wetting on trapping efficiency [J]. Journal of Physical Chemistry A, 2014, 118(41):10364–10371.

[48] 匡洋民. 多孔介质内水合物微观相变对气水运移影响研究 [D]. 大连:大连理工大学, 2021.
Kuang Y M. Study on the influence of microscopic phase change of hydrate on gas–water migration in porous media [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2021.

[49] Wang L, Chen L, Zheng X, et al. Multimodal bubble microrobot near an air–water interface [J]. Small, 2022,18(47):2203872.

[50] 叶林征,祝锡晶,王建青.近壁声空泡溃灭微射流冲击流固耦合模型及蚀坑反演分析 [J]. 爆炸与冲击, 2019,39(1):21−32.
Ye L Z, Zhu X J, Wang J Q. Fluid–solid coupling model of near-wall

acoustic cavitation collapse micro-jet impact and crater inversion analysis [J]. Explosion and Shock Waves, 2019,39(1):21–32.

[51] 聂 敏,王 琪,邱桂花. OH 自由基捕捉剂加速超声引发乳液聚合的研究 [C]. 全国高分子材料科学与工程研讨会论文集, 2006:174−175.
Nie M, Wang Q, Qiu G H. Study on OH radical scavengers accelerating ultrasound-initiated emulsion polymerization [C]. Proceedings of the National Symposium on Polymer Materials Science and Engineering. 2006:174–175.

[52] Volkov A, Vikulina V, Vikulin P, et al. The effect of ultrasound on the process of water softening [J]. MATEC Web of Conferences, 2018,251: 04060.

[53] Wang Y, Xue J, Sun W, et al. Efficiency and mechanism of ozonated microbubbles for enhancing the removal of algae and algae-derived organic matter [J]. Chemosphere, 2023,312:137220.

[54] 姜民禹,郭若男,郭昌胜,等.臭氧微纳米气泡氧化降解典型紫外线过滤剂的效能和机理 [J]. 环境工程技术学报, 2024,14(6):1121−1129.
Jiang M Y, Guo R N, Guo C S, et al. Performance and mechanism of ozonated micro-nano bubbles for oxidation and degradation of typical UV filters [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2024,14(6):1121–1129.

[55] Fan W, An W, Huo M, et al. An integrated approach using ozone nanobubble and cyclodextrin inclusion complexation to enhance the removal of micropollutants [J]. Water Research, 2021,196:117039.

[56] Xue W, Macleod J, Blaxland J. The use of ozone technology to control microorganism growth, enhance food safety and extend shelf life: a promising food decontamination technology [J]. Foods, 2023,12(4): 814.

[57] Li P, Song Y, Yu S, et al. The effect of hydrodynamic cavitation on Microcystis aeruginosa: physical and chemical factors [J]. Chemosphere, 2015,136:245–251.

[58] Li P, Song Y, Yu S. Removal of Microcystis aeruginosa using hydrodynamic cavitation: performance and mechanisms [J]. Water Research, 2014,62:241–248.

[59] 戴慧旺,陈建新,苗笑增,等.醇类对 UV-Fenton 体系羟基自由基淬灭效率的影响 [J]. 中国环境科学, 2018,38(1):202−209.
Dai H W, Chen J X, Miao X Z, et al. Effect of alcohols on hydroxyl radical quenching efficiency in UV-Fenton system [J]. Chinese Environmental Science, 2018,38(1):202–209.

[60] 白敏冬,张芝涛,吕吉斌,等.海上围隔进行羟基杀灭赤潮生物的研究 [J]. 海洋科学, 2006,30(2):54−57,63.
Bai M D, Zhang Z T, Lü J B, et al. Study on hydroxyl-based killing of red tide organisms in offshore enclosures [J]. Marine Sciences, 2006, 30(2):54–57,63.

[61] 邹 华,张 宁,王娅娜,等.光电催化降解印染废水的羟基自由基机理研究 [J]. 水处理技术, 2013,39(3):20−23,27.
Zou H, Zhang N, Wang Y N, et al. Mechanism of hydroxyl radicals in photoelectrocatalytic degradation of dyeing and printing wastewater [J]. Water Treatment Technology, 2013,39(3):20–23,27.

[62] Lindenboim L, Zohar H, Worman H J, et al. The nuclear envelope: target and mediator of the apoptotic process [J]. Cell Death Discovery, 2020,6:29.

[63] El-Tabl A S, Wahed M M A E, Abu-Setta M H H. Metallo-bioactive compounds as potential novel anticancer therapy [J]. International Journal of Advances in Chemistry, 2018,4(1):17–37.

[64] Ayala A, Muñoz M F, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2014,2014:360438.

作者简介：周鹏宇(2001−),男,湖北武汉人,三峡大学水利与环境学院硕士研究生,研究方向为生态水利.857379428@qq.com.