

藻类胞外聚合物的产生因素及其在污水处理和生物絮凝方面的应用

母锐敏, 王曦晗, 马桂霞*, 祁峰, 孟倩雅

山东建筑大学市政与环境工程学院, 山东 济南 250101

母锐敏, 王曦晗, 马桂霞, 祁峰, 孟倩雅. 藻类胞外聚合物的产生因素及其在污水处理和生物絮凝方面的应用[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1324-1336.

MU Ruimin, WANG Xihan, MA Guixia, QI Feng, MENG Qianya. Factors influencing the production of algal extracellular polymers and their application in wastewater treatment and biological flocculation[J]. Microbiology China, 2023, 50(3): 1324-1336.

摘要: 藻类胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)是一种复杂的高分子聚合物, 主要由多糖、蛋白质等物质组成。由于 EPS 具有独特的结构、大的比表面积及含有大量官能团等物理-化学特性, 使其在污水处理及微藻生物质的絮凝回收等方面都有着非常重要的作用。本文系统介绍了 EPS 的组成及特性, 重点论述了影响藻类 EPS 产生的生物因素及非生物因素, 如光照、营养盐、pH 及温度等, 并对 EPS 在污水处理及生物絮凝方面的应用进行了总结。对藻类 EPS 产生机制及机理的深入研究有望为微藻提供更广阔的应用前景。

关键词: 胞外聚合物; 微藻; 污水处理; 生物絮凝; 生物质回收

Factors influencing the production of algal extracellular polymers and their application in wastewater treatment and biological flocculation

MU Ruimin, WANG Xihan, MA Guixia*, QI Feng, MENG Qianya

School of Municipal and Environmental Engineering, Shandong Jianzhu University, Ji'nan 250101, Shandong, China

Abstract: With the main constituents of polysaccharides and proteins, microalgal extracellular polymers substances (EPS) feature unique structure, large specific surface area, and a large

资助项目: 山东省高等学校“青创科技计划”项目(2019KJD003); 山东省自然科学基金(ZR2020ME229)

This work was supported by the Youth Innovation Technology Project of Higher School in Shandong Province (2019KJD003) and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2020ME229).

*Corresponding author. E-mail: mgx2016@126.com

Received: 2022-07-11; Accepted: 2022-10-10; Published online: 2022-11-23

number of functional groups, playing a very important role in wastewater treatment and flocculation for recovering microalgal biomass. In this paper, we introduce the composition and characteristics of EPS, focusing on the biotic factors and abiotic factors that affect the production of EPS, such as light, nutrients, pH, and temperature. The application of EPS in wastewater treatment and bioflocculation is summarized. The in-depth research on the production mechanism of microalgal EPS is expected to expand the application of microalgae.

Keywords: extracellular polymeric substances; microalgae; wastewater treatment; bioflocculation; biomass recovery

胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 是微生物细胞分泌的一种高分子化合物, 主要是由包膜 (cell EPS, C-EPS)、黏液 (soluble EPS, SL-EPS)、松散结合的 EPS (loosely bound EPS, LB-EPS) 和紧密结合的 EPS (tightly bound EPS, TB-EPS) 组成, 生物膜中的 EPS 占总有机物的 50%–90%, 其产生与物种种类和所处的生长条件有关^[1-9], 藻类的胞外聚合物主要成分是多糖和蛋白质, 还有少量的有机酸 (如乙醇酸、甲酸酯)、类脂物质 (如脂肪酸)、酚类物质等^[2]。由于微藻胞外聚合物具有独特的物理化学特性, 其被广泛应用于诸多领域, 如生物絮凝及水处理等^[10]。

EPS 作为细胞外部包裹的物质, 具有很多重要的作用, 如保护细胞的完整性及影响生物膜传质、细胞表面电荷和酶活性等^[11]。不仅如此, EPS 对藻类的生物群落组成、微生物外层被膜的形成、废水生物修复及生物质回收等都具有重要的调控作用^[12-14]。EPS 在藻细胞相互聚集、黏结形成群体的过程中发挥着重要作用^[15]。

微藻 EPS 的产生受到多种因素的影响。研究表明, 生长后期到稳定期的藻类分泌的 EPS 含量最高^[6,8,14-16], 而且光谱、光质、光强、光周期都可以从不同方面影响藻类 EPS 的分泌^[17-20]; 在高 C/N (碳氮比) 或高 C/P (碳磷比) 条件下, 胞外聚合物的含量会显著上升^[21]; 大多数藻类在微碱性环境 (pH 7.0–9.0) EPS 产量达到最

大值^[8,16,21-23]; 高温胁迫也会增加 EPS 的分泌量^[16,23-24]。近年来, 随着微藻污水处理及生物质能源利用的广泛研究, 微藻 EPS 的性质和功能备受关注^[14,21]。

本文介绍了 EPS 的组成和特性, 重点对影响藻类 EPS 产生的生物因素及非生物因素 (光照、营养元素、pH、温度及重金属等) 进行了汇总, 并对 EPS 在污水处理和生物絮凝方面的应用进行了综述, 以期对 EPS 的研究应用提供更好的指导作用。

1 胞外聚合物

1.1 胞外聚合物的定义及组成

EPS 最初被 Flemming 等^[25]描述为“胞外多糖”, 而近年来的研究发现 EPS 是由多种物质组成的, 其主要成分是蛋白质和多糖, 约占 EPS 总量的 70%–80%, 还包含核酸、脂质和腐殖物质等, 所以用“聚合物”代替了“多糖”。每种微藻产生的 EPS 中物质成分和含量各不相同, 如莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 合成的 EPS 中蛋白质的含量为 42.1%^[26]。Liu 等^[27]对绿藻 (*Chlorophyta*) 产生 EPS 的调查显示, EPS 中的蛋白质含量为 15.27%–24.19%。EPS 是具有高度多样性化学成分和结构的大分子, 微生物细胞壁外不直接固定在外膜上的聚合物都应算作是 EPS^[28]。它们可作为藻细胞的保护层, 使藻细胞免受外界恶劣环境的影响, 并可以在营

营养物质缺乏时为藻类提供碳源和能量。细胞外存在的 EPS 可细分为结合型和溶解型(图 1), 内层由紧密结合的 EPS (TB-EPS)组成, 它们与细胞表面紧密结合; 外层由松散结合的 EPS (LB-EPS)组成, 是分散的黏液层且无边界。

EPS 的分子量一般是在 1.0×10^5 – 2.5×10^6 g/mol, 但是也有部分 EPS 的分子量比较小^[11], 如 Alam 等^[29]的研究发现, 从小球藻 JSC-7 中提取的 EPS 的分子量仅为 9.86×10^3 g/mol。EPS 基质不仅仅是生物膜的黏合剂, 它还是一个高度复杂的系统, 在一些微生物群落中, EPS 通常具有明显的大分子“蜂窝状”结构^[30]。

1.2 胞外聚合物的特性

EPS 含有的大量带电官能团使其具有吸附性、黏附性、疏水性及亲水性^[31], EPS 的亲水性主要来源于水合的胞外多糖, 亲水性基团的主要成分是蛋白质而疏水性基团主要成分是碳水化合物。EPS 中多糖和蛋白质的含量和特性决定了 EPS 的表面特性和生物降解性。

EPS 的表面呈现电负性, 因含有多种官能团如羟基、羧基等, 使得 EPS 对铅的结合能力比较强; 其中 EPS 的亚组分中, LB-EPS 含有更多能释放 H^+ 的官能团, 所以 LB-EPS 对 Pb^{2+} 的吸附能力分别是 SL-EPS 和 TB-EPS 的 2.23 倍和 1.50 倍^[1]。EPS 对其他重金属也表现出优异的吸附性能, 如镍、铜、铅、镉及锌等^[3]。

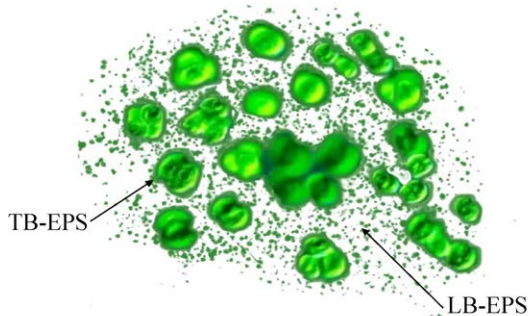


图 1 EPS 的结构组成

Figure 1 Structural composition of EPS.

2 微藻 EPS 产生的影响因素

微藻是一类广泛而多样的光合微生物, 微藻细胞合成 EPS 受到多种因素的影响^[20], 生物因素主要包括微藻种类及其所处的生长阶段、底物消耗及藻毒素等; 非生物因素主要包括光照、温度、营养盐、pH 等。

2.1 生物因素

生物因素主要指微藻的种类及其所处的不同生长阶段。不同种类的微藻产生的 EPS 组成不同, 同一种藻在不同生长阶段产生的 EPS 含量也大不相同。例如, 物种丰富的硅藻(diatom)虽然种类繁多, 但它们的胞外聚合物都主要由硫化多糖组成且不含脂质物质^[4]。大多数蓝藻中, 葡萄糖和半乳糖是最广泛存在的中性糖^[5], 而氨基葡萄糖仅在几种鱼腥藻(*Anabaena*)中发现。人们在杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)的 EPS 中检测到 4 种单糖: 半乳糖、葡萄糖、木糖和果糖^[5]。

微藻在不同生长阶段其 EPS 的产量也不相同。硅藻类三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorutum* Bohlin)和筒柱藻(*Cylindrotheca*)在生长期 EPS 的产量会明显增多^[6], 新月菱形藻(*Nitzschia closterium f. minutissima*)在指数生长期前期和稳定期都能产生较多的 EPS^[8], 格式圆筛藻(*Coscinodiscus granii*)^[6]也主要在生长期产生 EPS。大多数微藻 EPS 的最大产量会出现在稳定期, 如球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、角毛藻(*Chaetoceros*)和海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)^[8]; 中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)在衰亡期产生的 EPS 含量最多^[6]; 而棕囊藻(*Phaeocystis*)虽然指数增长期藻类细胞增长迅速, 但其胞外聚合物产量却最小^[7]。正如 Wang 等^[32]的研究表明, 藻类 EPS 产量受其生长影响, 并与细胞生物量呈负相关。总之,

上述研究表明, EPS 的产生与微藻种类和生理活性有关。

2.2 非生物因素

EPS 的产生也受到许多非生物因素的影响。据研究报道, 藻类在胁迫条件下会产生大量的 EPS^[20,33-38], 这可能是由于 EPS 扮演着保护藻类自身和其他生物的角色。因此, 可以通过调节培养条件改变 EPS 含量及预期组分的产生。

2.2.1 光照

微藻的生长受到光合作用的影响, 所以影响光合作用的因素(如光谱、光质、光照强度、光照周期等)也会影响 EPS 的产生^[16,19,33-34]。

对于光质和光谱不同的光源, Medina-Cabrera 等^[18]对紫球藻(*Porphyridium sordidum*)的研究表明, 白光更有利于其胞外多糖的产生; 而尤珊等^[19]的研究表明, 绿光则会显著刺激螺旋藻(*Spirulina*)的胞外多糖分泌。

不同的光照强度对微藻的 EPS 也有不同的影响, 如 Otero 等^[20]对念珠藻的研究发现, 高光照强度增加了总碳水化合物和胞外聚合物的合成。刘娟妮等^[33]的研究表明, 极端高光强和极端低光强都有利于极大螺旋藻 438 合成胞外多糖。尤珊等^[19]研究表明, 当螺旋藻的光照强度为 20 klx 时胞外多糖分泌量是 10 klx 的 3 倍, 证明高光照强度更有利于螺旋藻胞外多糖的积累。球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)在高光照度下其胞内和胞外多糖产量都会高于低光照度下的产量^[9]。

针对光照周期对 EPS 产生的影响, 王大志等^[16]在光照周期对硅藻胞外多糖的影响研究中发现, 骨条藻(*Skeletonema*)在短光照时胞外多糖的产量较高, 而且胞外多糖的最大含量出现在生长期后期; 同时还发现网纹三角藻(*Triceratium reticulum*)和三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornerutum* Bohlin)的胞外多糖

含量在长光照(L:D=16:8)条件下最高, 这可能是由于光照周期影响了藻细胞光吸收的总量, 导致细胞的分裂模式及细胞内有机物质合成果实发生改变, 从而影响到胞外多糖的分泌。总之, 光谱、光质、光强和光照周期等都会从不同方面影响藻类胞外聚合物的合成及其组分, 而且具有种间特异性。

2.2.2 营养盐

藻类的生长取决于环境中氮和磷的含量。如果藻类长期缺乏碳、氮、硫、磷等物质, 它们的生长就会停滞或凋亡^[37]。大多数藻类的胞外聚合物分泌量与其生长环境中主要营养盐比例之间存在着一定的关联, 氮缺乏(氮饥饿)通常被描述为一种促进 EPS 合成的条件。对大多数微藻而言, 碳源的含量越高, EPS 的产量就越高, 而氮则与之相反。

在对藻类生产 EPS 的研究中发现, 不同的碳氮比也会影响 EPS 的产量, 碳氮比越大, EPS 的产量就越高, 10:1 的比例一般被认为是最有利的^[39]。在 N 或 P 元素缺乏时, 即在高 C/N 或高 C/P 条件下, 都会不同程度地增加藻类 EPS 的产量^[21,34-36,39]。对单细胞微藻紫球藻(*Porphyridium*), 高 C/N 能显著促进 EPS 的合成和分泌; 而且高 C/N 会影响藻细胞蛋白质的降解, 产生的新氮源可以用于 EPS 的合成^[35]。在氮缺乏条件下, 单细胞微囊藻的 EPS 含量在第 3 天达到最高^[36], 而且氮也是影响蓝藻类 EPS 合成的重要因素之一^[34], 氮浓度或氮形态都会影响 EPS 的产生。Staats 等^[40]的研究发现, 氮和磷缺乏会导致硅藻 *Cylindrotheca closterium* 停止生长, 并刺激其胞外多糖的积累。尤珊等^[21]得出类似的结论: 低氮培养条件对螺旋藻内部生物量积累的影响不太明显, 但却有利于螺旋藻胞外多糖的积累, 在低氮(0.5 g/L)培养的条件下, EPS 的产量达到 12.79 mg/L, 比标准培养

的 3.41 mg/L 高了 4 倍。综上所述,氮饥饿是最普遍的促进 EPS 合成的外界因素。

营养盐也是影响 EPS 分泌的重要因素之一,如使用废水培养藻类会使其 EPS 中的蛋白质含量升高,这可能是由于废水中含有许多有利于藻类 EPS 生长的营养物质^[41]。上述研究表明,氮源、碳源及营养盐对藻细胞生长和 EPS 的产生都有很大的影响,因此,可以通过营养限制(即相对氮、磷限制或碳过量)及高盐度等来调控 EPS 的产量。

2.2.3 pH

pH 是合成 EPS 的重要影响因素,一旦环境 pH 超出其适宜范围,藻体的光合速率会显著下降^[42],主要的机理可能是 pH 通过改变水体酸碱度进而影响到酶的活性和膜的渗透性,从而影响 EPS 的产生。大多数藻类都会在偏碱性条件下产生更高含量的 EPS,如爪哇伪枝藻(*Scytonema javanicum*),当 pH 为 7.5 时,胞外多糖产量显著高于酸性条件下的产量^[17]。李晓伟等^[22]研究发现,斜生栅藻(*Tetradismus obliquus*)和水华鱼腥藻(*Anabaena flos-aquae*)分别在 pH 为 8.0 和 9.0 时 EPS 产量最高;而且在碱性条件下,EPS 的产量与生物量增量存在正相关性。蓝藻的生长和 EPS 的产生也偏好较高的 pH 环境^[23]。

2.2.4 温度

温度是影响藻细胞生长代谢的关键因素之一,合成 EPS 的最佳温度具有物种特异性。研究表明,极端温度条件可能有利于胞外多糖的积累,而适宜温度会有利于胞内多糖的积累^[23]。蓝藻属的爪哇伪枝藻(*Scytonema javanicum*)随培养温度升高胞外多糖分泌量逐渐升高,在 35 °C 时达到最大值^[17]。温度对不同种类藻类的影响也有差异,鱼腥藻(*Anabaena* sp. ATCC 33047)在温度为 40–45 °C 时的 EPS 产量明显高于

30–35 °C 时^[43],而螺旋藻生产 EPS 的含量会随着温度的升高而降低^[5]。谢作明等^[15]的研究指出,高温胁迫提高了具鞘微鞘藻(*Microcoleus vaginatus*)胞外多糖的积累,这可能与 *M. vaginatus* 对高温胁迫的应变机制有关。

综上所述,温度是影响 EPS 产生的重要因素。极端温度条件可以促进大多数微藻产生更多 EPS,这是因为在 EPS 生产过程中出现的酶与微生物生长具有不同的最适温度^[38]。

2.2.5 其他因素

藻类 EPS 的产生还受到其他因素的影响,如磁场、有毒物质、重金属、群体感应信号分子(AHLs)等因素。郑必胜等^[44]表明,如果在对数生长期对螺旋藻进行短期的 160 kA/m 的磁场处理,既能保证螺旋藻生长,同时也是刺激螺旋藻胞外多糖分泌的最适条件。Higgins 等^[12]的研究表明,高浓度的 Ca²⁺或 Mg²⁺会使 EPS 中蛋白质的含量升高。Sheng 等^[13]研究发现, Hg²⁺对 EPS 成分中的蛋白质的影响大于对腐殖酸的影响,而且重金属主要通过络合作用与 EPS 相互结合。罗锋等^[45]研究表明,信号分子也能显著促进微生物的生长,同时可促进胞外聚合物的形成。

由以上分析可以发现,影响藻类胞外聚合物含量和组成的因素颇多(图 2),而各种影响因素之间还存在着复杂的耦合关系。因此,深入研究非生物因素对藻类的生长及其胞外聚合物之间的关系极其重要。

3 EPS 在污水处理中的作用

近年来,微藻在废水处理方面的应用得到了广泛的研究^[14,37,46-52],而 EPS 在藻类对金属的生物吸附过程中起着重要作用, EPS 可以增强细胞在固体表面的沉积使其聚合,如图 3 所示,藻类应用于废水处理时,对营养物质的吸

收被认为是藻类去除营养盐的主要机制。藻际微环境中产生的 EPS 除了可以作为营养基础供养藻类生长外, 还会影响藻际细菌外部生物被膜的形成、藻菌共生关系的建立及调节微生物群落组成等^[14]。EPS 不但会影响微生物团聚体的性质和功能, 而且 EPS 的存在可以加速产生和释放胞外水解酶, 有利于藻际共生环境中大分子物质的吸收与消耗, 提高污水处理效率^[14]。

3.1 EPS 在废水生物除磷中的作用

通常认为, 污水的生物除磷作用主要是通过聚磷菌(phosphorus accumulating organisms, PAO)将大部分磷以多聚磷酸盐的形式贮存在微生物内部, 从而实现污水中磷的去除。然而近年来的一些研究发现, 在生物除磷作用中, 除了聚磷菌对磷有去除效果外, EPS 也会吸收部分磷元素^[53], EPS 在污水处理的生物除磷系

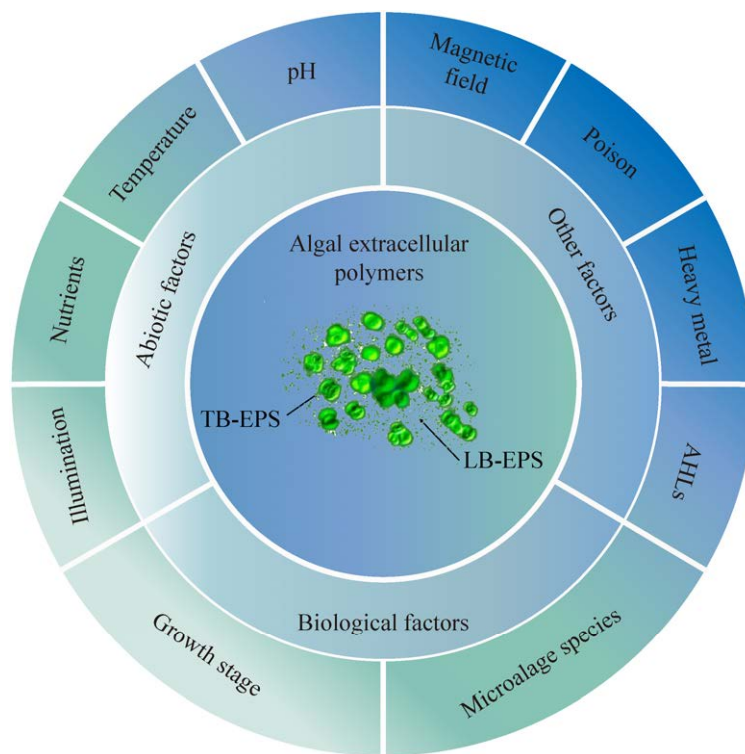


图 2 影响藻类 EPS 的因素

Figure 2 Factors affect the EPS of algae.

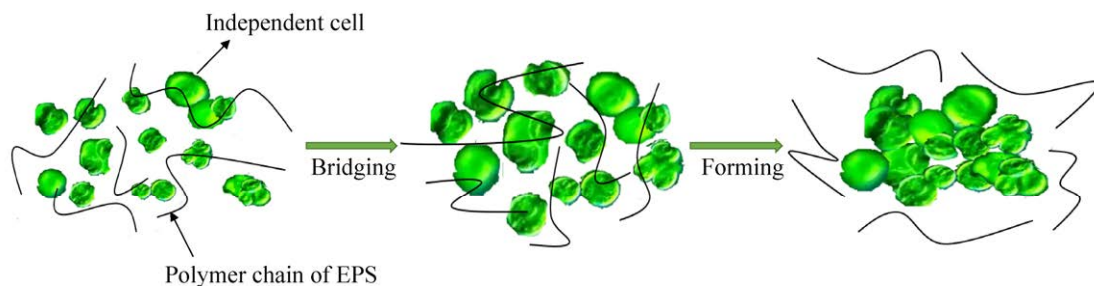


图 3 EPS 及其细胞间的相互作用

Figure 3 EPS and its intercellular interaction.

统中起到动态储磷库的作用, 无论微生物是因为好氧吸磷还是厌氧释磷都会途经 EPS 基质, 而 EPS 会进行储存和截留不同形态及含量的磷^[47]。小球藻在吸收氮、磷以供生长利用的过程中同时产生了大量的 EPS, 而且 EPS 的产生量与氮磷去除率之间具有良好的相关性, 氮、磷的去除效率随着 EPS 产生量的增加而增加^[11]。EPS 生物除磷的机理十分复杂, 如周健等^[54]在探讨 EPS 在生物除磷中的作用时发现, 在好氧条件下, EPS 表面吸附了大量金属离子, 如 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 等, 它们能够通过离子交换与基质中的 PO_4^{3-} 形成螯合物, 从而聚集贮存于 EPS 中, 这同时也表明 EPS 有吸附重金属离子的作用。

3.2 藻类及其 EPS 对废水中重金属的作用

重金属的毒性大, 会随着食物链富集, 从而引发严重的环境污染问题, 而藻类及其 EPS 有机体可耐受并浓缩富集环境中的重金属离子, 是很重要的天然高效生物吸附剂。藻类及其 EPS 去除污水中的重金属除了具有低成本的优点外, 还具有很多其他优势, 例如可以比藻类生物膜工艺处理更高金属浓度的废水^[55], 并且藻类的生物质可以在多个吸附或解吸过程后再生和再利用。

藻类对于重金属的吸附采用了细胞内和细胞外结合金属的方法(如离子交换、螯合、物理吸附和络合), 以克服重金属的毒性, 藻类具有较大的表面积, 可使官能团与金属离子充分接触并吸附在位点上^[56]。Balzano 等^[57]证实, 微藻主要通过 2 种蛋白质的生物合成降低重金属的毒性, 即金属硫蛋白(metallothionein, MT)和植物螯合蛋白(phytochelatin, PC); 微藻之所以能够耐受重金属毒性的胁迫, 原因之一是重金属可以诱导微藻合成 MT 和 PC 等重金属结合蛋白, 并通过螯合作用将有害金属离子转化为无毒的蛋白质结合形式。此外, 藻类产生的 EPS

有机体也可耐受并浓缩富集环境中的重金属离子, 是很重要的天然高效生物吸附剂。EPS 能与重金属形成络合物, 附着在藻类细胞的胶质鞘上, 使重金属离子无法进入细胞内部, 从而降低水体周围的重金属含量^[58]。藻类细胞外的胞外多聚糖是由复杂的阴离子聚合物组成的, 如单糖、多糖、多肽、乙酰基等, 这些物质使得藻类的胞外多聚糖成为很好的阳离子螯合剂, 可以与重金属发生配位反应、氧化还原反应等, 从而加强藻类对于重金属物质的富集作用^[59]。

3.3 EPS 在废水生物处理中的其他应用

EPS 具有丰富的官能团($-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CO}$ 等), 可与外部有机、无机化合物结合形成絮体^[48]。EPS 可以有效促进絮凝沉降^[60], 对于列入新污染物行列中的微塑料, EPS 也可以促进微塑料(microplastics, MPs)的沉积, 一旦 MPs 进入水生系统, 它们就会被微藻分泌的 EPS 形成的生物膜所定殖, 加快 MPs 向沉积物的迁移从而达到去除 MPs 的作用, 因此, EPS 的存在对处理悬浮颗粒、去除污水中的有机物及提高出水水质, 都有很重要的意义^[49]。

4 EPS 对微藻生物絮凝的影响

由于微藻细胞密度低, 微藻细胞从处理后的废水中分离成为微藻废水处理过程中的一个瓶颈, 藻类的聚集和絮体结构也会在很大程度上影响藻类的收获效率^[61-63]。Lavoie 等^[61]在斜生栅藻是自动絮凝还是生物絮凝的研究中首次报道了微藻的生物絮凝, 藻类的生物絮凝是利用藻类及其胞外聚合物诱导颗粒进行聚集的。Guo 等^[63]研究四尾栅藻(*Scenedesmus quadricanda*)絮凝作用及其机理时发现, 如果藻类细胞周围没有 EPS, 即使存在絮凝剂也无法絮凝^[62]。Guo 等^[63]在对自絮凝微藻 *Scenedesmus*

obliquus AS-6-1 的胞外聚合物进行表征时发现, 微藻细胞壁中含有葡萄糖、甘露糖、半乳糖、鼠李糖和果糖, 其摩尔比为 8:5:3:2:1, 因为其胞外多糖的特殊含量和组成, 对各种自由悬浮的微藻细胞产生强烈的生物絮凝作用, 充分显示了胞外聚合物中的多糖对于生物絮凝的重要作用。胞外多糖中的蛋白质和 DNA 含量对微生物聚集体的沉降性有更显著的影响, 并且藻类的生物絮凝非常依赖于藻类的自发聚集, 因为藻类会分泌 EPS 并在废水环境中与细菌分泌的 EPS 产生桥接效应, 从而形成生物絮凝剂进行絮凝^[64]。生物絮凝剂的效果也取决于沉降的微藻种类, 以及微藻产生的 EPS 中各组分的含量和成分^[64]。紧密结合的 EPS 是 EPS 的主要成分, 其含量会随着预处理时间的增加而

增加, 从而提高了悬浮物浓度, 而过多松散结合的 EPS 对絮凝会产生负面影响, 减少松散结合的 EPS 会提高生物量回收率。

微藻采收通常采用化学絮凝法, 如三氯化铁及聚合氯化铝对小球藻的采收率均达到 90% 以上^[65], 但是化学絮凝剂因存在化学试剂残留而导致二次污染等问题, 影响到微藻油脂的提取及生物柴油的制备。然而生物絮凝剂易被微生物降解, 安全性高, 适应当代可持续发展的理念, 并且微藻采集和下游加工应作为一个整体考虑^[66]。EPS 作为絮凝剂絮凝采收微藻, 其絮凝机理如图 4 所示, 因此, 深入研究藻类 EPS 基质的形成和特性, 将有助于了解藻类的生物絮凝和聚集, 从而促进藻类生物能源在污水处理等方面的应用及推广^[43]。

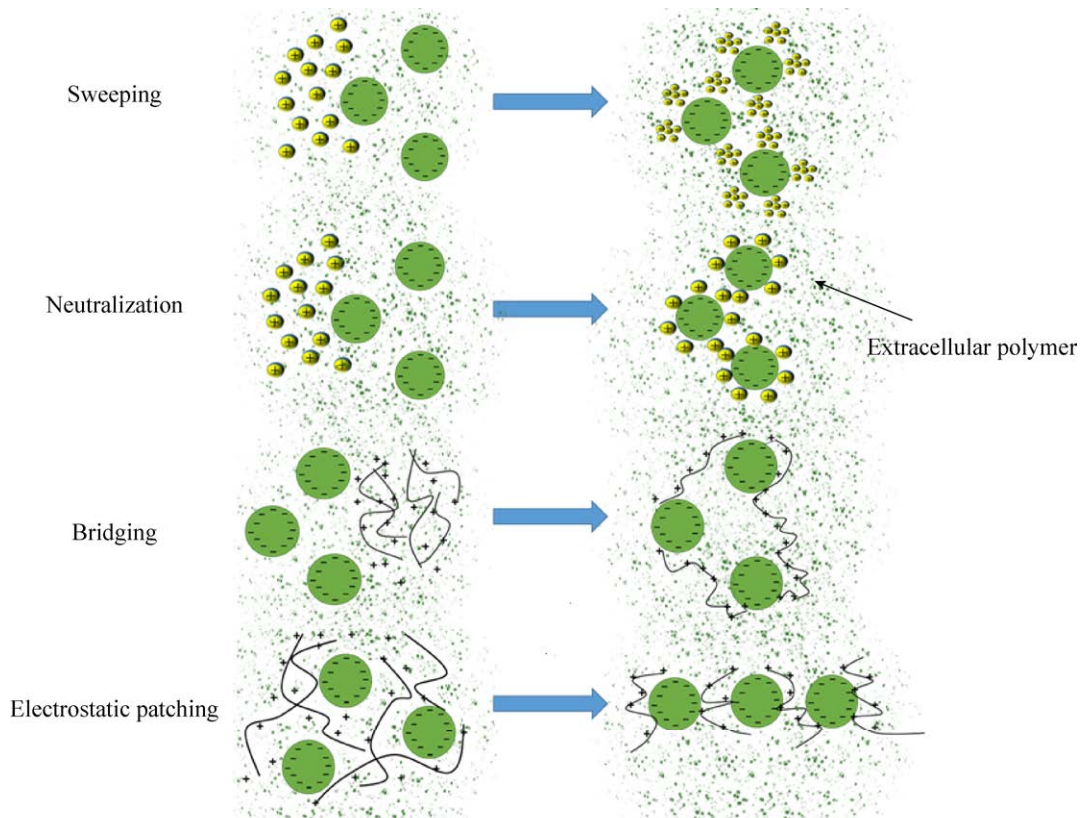


图 4 微藻及其 EPS 的絮凝机理

Figure 4 Flocculation mechanism of microalgae and the EPS.

5 总结

1) EPS 主要由多糖和蛋白质组成,是具有高度多样性化学成分和结构的大分子物质。EPS 的产生同时受到多种因素的影响:生物因素主要是指微藻种类及生长阶段;而非生物因素主要包括光照、营养盐、温度、pH 等。另外,各种影响因素之间存在着复杂的耦合关系。

2) EPS 作为藻细胞的保护层,可使藻细胞免受外界恶劣环境的影响,并可以在营养物质缺乏时为藻类提供碳源和能量。

3) 藻类应用于废水处理时,对营养物质的吸收被认为是藻类去除营养盐的主要机制。EPS 的存在可以加速产生和释放胞外水解酶,有利于藻际共生环境中大分子物质的吸收与消耗。此外, EPS 能与重金属形成络合物从而提高污水处理效率。

4) EPS 具有的丰富官能团可与外部有机、无机化合物结合形成絮体,有效促进藻细胞絮凝沉降。EPS 作为生物絮凝剂,因其无毒且可生物降解,能显著提高收获后藻类生物质的安全性。

REFERENCES

- [1] LI Y, XIN MF, XIE DY, FAN SR, MA JM, LIU KH, YU FM. Variation in extracellular polymeric substances from *Enterobacter* sp. and their Pb²⁺ adsorption behaviors[J]. ACS Omega, 2021, 6(14): 9617-9628.
- [2] 张坤诚. 藻类的胞外产物[J]. 海洋科学, 1982(5): 54-57.
ZHANG KC. Extracellular products of algae[J]. Marine Sciences, 1982(5): 54-57 (in Chinese).
- [3] SHI YH, HUANG JH, ZENG GM, GU YL, CHEN YN, HU Y, TANG B, ZHOU JX, YANG Y, SHI LX. Exploiting extracellular polymeric substances (EPS) controlling strategies for performance enhancement of biological wastewater treatments: an overview[J]. Chemosphere, 2017, 180: 396-411.
- [4] 王大志, 黄世玉, 程兆第. 三种海洋硅藻胞外多聚物形态、微细结构及组成的初步研究[J]. 海洋与湖沼, 2004(3): 273-278.
WANG DZ, HUANG SY, CHENG ZD. Morphology, fine structure and chemical composition of extracellular polymeric substances in three marine diatom species[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2004(3): 273-278 (in Chinese).
- [5] NICOLAUS B, PANICO A, LAMA L, ROMANO I, MANCA MC, DE GIULIO A, GAMBACORTA A. Chemical composition and production of exopolysaccharides from representative members of heterocystous and non-heterocystous cyanobacteria[J]. Phytochemistry, 1999, 52(4): 639-647.
- [6] UNDERWOOD GJC, BOULCOTT M, RAINES CA, WALDRON K. Environmental effects on exopolymer production by marine benthic diatoms: dynamics, changes in composition, and pathways of production[J]. Journal of Phycology, 2004, 40(2): 293-304.
- [7] HONG Y, SMITH WO, WHITE AM. Studies on transparent exopolymer particles (Tep) produced in the Ross Sea (Antarctica) and by *Phaeocystis antarctica* (*Prymnesiophyceae*)[J]. Journal of Phycology, 1997, 33(3): 368-376.
- [8] 王大志, 黄世玉, 程兆第. 营养盐水平对四种海洋浮游硅藻胞外多糖产量的影响[J]. 台湾海峡, 2003, 22(4): 487-492.
WANG DZ, HUANG SY, CHENG ZD. Influences of nutrient status on extracellular carbohydrate production of marine planktonic diatoms[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2003, 22(4): 487-492 (in Chinese).
- [9] 浦寅芳, 孙颖颖, 严军威, 阎斌伦. 不同环境因子对球等鞭金藻胞内和胞外多糖合成的影响[J]. 淮海工学院学报(自然科学版), 2008, 17(4): 61-64.
PU YF, SUN YY, YAN JW, YAN BL. Effect of environmental factors on the intracellular and extracellular polysaccharide production of *Isochrysis galbana*[J]. Journal of Huaihai Institute of Technology: Natural Sciences Edition, 2008, 17(4): 61-64 (in Chinese).
- [10] FLEMMING HC, WINGENDER J. Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs) – part I: structural and ecological aspects[J]. Water Science and Technology, 2001, 43(6): 1-8.
- [11] 陈彪. 重金属胁迫下胞外聚合物在小球藻脱氮除磷

- 过程中的作用[D]. 湘潭: 湘潭大学硕士学位论文, 2015.
- CHEN B. Role of extracellular polymeric substances from *Chlorella vulgaris* in the removal of ammonium and orthophosphate under the stress of cadmium[D]. Xiangtan: Master's Thesis of Xiangtan University, 2015 (in Chinese).
- [12] HIGGINS MJ, NOVAK JT. Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation[J]. Journal of Environmental Engineering, 1997, 123(5): 479-485.
- [13] SHENG GP, XU J, LI WH, YU HQ. Quantification of the interactions between Ca^{2+} , Hg^{2+} and extracellular polymeric substances (EPS) of sludge[J]. Chemosphere, 2013, 93(7): 1436-1441.
- [14] 张圣洁, 蔡中华, 朱伟胜, 曾艳华, 周进. 藻际环境中胞外聚合物的研究进展[J]. 微生物学报, 2020, 60(8): 1521-1533.
- ZHANG SJ, CAI ZH, ZHU WS, ZENG YH, ZHOU J. Advances in extracellular polymeric substances in phycosphere environment[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(8): 1521-1533 (in Chinese).
- [15] 谢作明, 刘永定, 陈兰洲, 胡春香, 李敦海, 沈银武. 不同培养条件对具鞘微鞘藻生物量和多糖产量的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(2): 272-275.
- XIE ZM, LIU YD, CHEN LZ, HU CX, LI DH, SHEN YW. The effects of different cultivation conditions on the biomass and exopolysaccharide production by *Microcoleus vaginatus* Gom.[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(2): 272-275 (in Chinese).
- [16] 王大志, 黄世玉, 程兆第. 光暗周期对3种海洋浮游硅藻胞外多糖生产的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43(2): 244-248.
- WANG DZ, HUANG SY, CHENG ZD. Influences of light-dark cycle on production of extracellular polysaccharide in three marine planktonic diatom species[J]. Journal of Xiamen University: Natural Science, 2004, 43(2): 244-248 (in Chinese).
- [17] 饶本强, 张继英, 娄亚敏, 梅海霞, 王艳璐. 不同环境因子对爪哇伪枝藻分泌胞外多糖的影响[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2004, 17(4): 496-500.
- RAO BQ, ZHANG JY, LOU YM, MEI HX, WANG YL. Effects of different environmental factors on the extracellular polysaccharide exudation of *Scytonema javanicum*[J]. Journal of Xinyang Normal University: Natural Science Edition, 2004, 17(4): 496-500 (in Chinese).
- [18] MEDINA-CABRERA EV, RÜHMANN B, SCHMID J, SIEBER V. Optimization of growth and EPS production in two *Porphyridum* strains[J]. Bioresource Technology Reports, 2020, 11: 100486.
- [19] 尤珊, 郑必胜, 郭祀远. 光照对螺旋藻形态及胞外多糖的影响和机理[J]. 海湖盐与化工, 2004, 33(1): 23-25, 31.
- YOU S, ZHENG BS, GUO SY. Effect of illumination on the growth and EPS of *Spirulina*[J]. Sea-Lake Salt and Chemical Industry, 2004, 33(1): 23-25, 31 (in Chinese).
- [20] OTERO A, VINCENZINI M. Extracellular polysaccharide synthesis by *Nostoc* strains as affected by N source and light intensity[J]. Journal of Biotechnology, 2003, 102(2): 143-152.
- [21] 尤珊, 郑必胜, 郭祀远. 氮源对螺旋藻生长及胞外多糖的影响[J]. 食品科学, 2004, 25(4): 32-35.
- YOU S, ZHENG BS, GUO SY. Effect of nitrogen on accumulation of *Spirulina platensis* exopolysaccharide[J]. Food Science, 2004, 25(4): 32-35 (in Chinese).
- [22] 李晓伟, 魏群, 陈延飞, 涂晓杰, 朱宇轩, 周军. pH对藻类生物膜脱氮除磷的影响研究[J]. 环境工程, 2016, 34(8): 74-78.
- LI XW, WEI Q, CHEN YF, TU XJ, ZHU YX, ZHOU J. Study on effect of pH value on removal of nitrogen and phosphorus by algal biofilm[J]. Environmental Engineering, 2016, 34(8): 74-78 (in Chinese).
- [23] 陈建中, 刘志礼, 李晓明, 张海洋, 李利芳, 李晓青. 温度、pH和氮、磷含量对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(5): 714-718.
- CHEN JZ, LIU ZL, LI XM, ZHANG HY, LI LF, LI XQ. Effects of temperature, pH, nitrogen and phosphorus on growth of *Microcystis aeruginosa*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2010, 41(5): 714-718 (in Chinese).
- [24] 朱成文. 淡水藻水溶液中糖浓度与相关化学因素的相关性研究[D]. 苏州: 苏州大学硕士学位论文, 2005.
- ZHU CW. Research on the interplays of the concentrations of carbohydrate and the chemical compositions of medium in freshwater algae system[D]. Suzhou: Master's Thesis of Soochow University, 2005 (in Chinese).
- [25] FLEMMING HC, WINGENDER J. The biofilm matrix[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(9):

- 623-633.
- [26] ZHU C, CHEN CH, ZHAO LY, ZHANG YH, YANG JY, SONG LR, YANG S. Biofloculant produced by *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Journal of Applied Phycology, 2012, 24(5): 1245-1251.
- [27] LIU GD, MIAO XL. Switching cultivation for enhancing biomass and lipid production with extracellular polymeric substance as co-products in *Heynigia riparia* SX01[J]. Bioresource Technology, 2017, 227: 214-220.
- [28] SHENG GP, YU HQ, LI XY. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review[J]. Biotechnology Advances, 2010, 28(6): 882-894.
- [29] ALAM MA, WAN C, GUO SL, ZHAO XQ, HUANG ZY, YANG YL, CHANG JS, BAI FW. Characterization of the flocculating agent from the spontaneously flocculating microalga *Chlorella vulgaris* JSC-7[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2014, 118(1): 29-33.
- [30] FLEMMING HC, NEU TR, WOZNIAC DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells"[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(22): 7945-7947.
- [31] STRATTON H, SEVIOUR B, BROOKS P. Activated sludge foaming: what causes hydrophobicity and can it be manipulated to control foaming?[J]. Water Science and Technology, 1998, 37(4-5): 503-509.
- [32] WANG M, ZHU ZR, DOLAN S, PARK C. Investigation of algal cultivation and anaerobic co-digestion of sewage sludge and algae at wastewater treatment plant (WWTP)[J]. Proceedings of the Water Environment Federation, 2012, 2012(13): 3586-3599.
- [33] 刘娟妮, 王雪青, 庞广昌. 温度和光照对极大螺旋藻多糖含量和 SOD 酶活力的影响[J]. 食品工业科技, 2008, 29(9): 132-134.
- LIU JN, WANG XQ, PANG GC. Effects of temperature and light on content of polysaccharides and activity of SOD in *Spirulina maxima*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(9): 132-134 (in Chinese).
- [34] 葛红梅, 周旭萍, 夏令, 张德禄, 胡春香. 光强和氮源对念珠藻胞外多糖分泌的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(3): 480-486.
- GE HM, ZHOU XP, XIA L, ZHANG DL, HU CX. Effects of light and nitrogen source on the secretion of extracellular polysaccharides from *Nostoc* sp.[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(3): 480-486 (in Chinese).
- [35] LI SH, JI L, CHEN C, ZHAO SX, SUN M, GAO ZQ, WU HZ, FAN JH. Efficient accumulation of high-value bioactive substances by carbon to nitrogen ratio regulation in marine microalgae *Porphyridium purpureum*[J]. Bioresource Technology, 2020, 309: 123362.
- [36] 雷腊梅, 宋立荣, 欧丹云, 韩博平. 营养条件对水华蓝藻铜绿微囊藻的胞外多糖产生的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2007, 46(3): 84-87.
- LEI LM, SONG LR, OU DY, HAN BP. Effects of nutrient conditions on exopolysaccharide production in water-bloom forming cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2007, 46(3): 84-87 (in Chinese).
- [37] MU RM, JIA YT, MA GX, LIU LR, HAO KX, QI F, SHAO YY. Advances in the use of microalgal-bacterial consortia for wastewater treatment: community structures, interactions, economic resource reclamation, and study techniques[J]. Water Environment Research, 2021, 93(8): 1217-1230.
- [38] BARCELOS MCS, VESPERMANN KAC, PELISSARI FM, MOLINA G. Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(9): 1475-1495.
- [39] LÜ JP, ZHAO F, FENG J, LIU Q, NAN FR, LIU XD, XIE SL. The impact of particulate and soluble organic matter on physicochemical properties of extracellular polymeric substances in a microalga *Neocystis mucosa* SX[J]. Algal Research, 2020, 51: 102064.
- [40] STAATS N, STAL LJ, MUR LR. Exopolysaccharide production by the epipellic diatom *Cylindrotheca closterium*: effects of nutrient conditions[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 249(1): 13-27.
- [41] WANG M, PARK C. Investigation of anaerobic digestion of *Chlorella* sp. and *Micractinium* sp. grown in high-nitrogen wastewater and their co-digestion with waste activated sludge[J]. Biomass and Bioenergy, 2015, 80: 30-37.
- [42] 邓光, 李夜光, 胡鸿钧, 齐雨藻, 耿亚红, 李中奎. 温度、光照和 pH 值对锥状斯氏藻和塔玛亚历山大藻光合作用的影响及光暗周期对其生长速率和生物量的影响[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(2): 129-135.

- DENG G, LI YG, HU HJ, QI YZ, GENG YH, LI ZK. Effects of temperature, light and pH on photosynthesis, and of light-dark cycle on growth rate and biomass of *Scrippsiella trochoidea* and *Alexandrium tamarense*[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2004, 22(2): 129-135 (in Chinese).
- [43] MORENO J, VARGAS MA, OLIVARES H, RIVAS J, GUERRERO MG. Exopolysaccharide production by the cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047 in batch and continuous culture[J]. Journal of Biotechnology, 1998, 60(3): 175-182.
- [44] 郑必胜, 郭祀远, 尤珊. 磁场处理对螺旋藻生长及胞外多糖的影响[J]. 食品科学, 2007, 28(1): 94-98.
- ZHENG BS, GUO SY, YOU S. Effects of magnetic treatment on biomass and EPS of *Spirulina*[J]. Food Science, 2007, 28(1): 94-98 (in Chinese).
- [45] 罗锋, 胡惠秩, 刘艺融, 张夏. AHLs 群体感应信号分子对活性污泥反应器处理高氨氮废水的影响[J]. 环境工程学报, 2021, 15(11): 3729-3740.
- LUO F, HU HZ, LIU YR, ZHANG X. Effect of N-acyl-homoserine-lactones mediated quorum sensing on the treatment of high ammonia nitrogen wastewater by activated sludge reactor[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(11): 3729-3740 (in Chinese).
- [46] QI F, JIA YT, MU RM, MA GX, GUO QY, MENG QY, YU GJ, XIE J. Convergent community structure of algal-bacterial consortia and its effects on advanced wastewater treatment and biomass production[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 21118.
- [47] 张海玲. 强化生物除磷系统中磷去除新机制的研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学博士学位论文, 2013.
- ZHANG HL. The new mechanism of phosphorus removal in the EBPR systems[D]. Hefei: Doctoral Dissertation of University of Science and Technology of China, 2013 (in Chinese).
- [48] XIAO R, ZHENG Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(7): 1225-1244.
- [49] GOPALAKRISHNAN K, KASHIAN DR. Extracellular polymeric substances in green alga facilitate microplastic deposition[J]. Chemosphere, 2022, 286: 131814.
- [50] 谭煜, 付丽亚, 周鉴, 李敏, 吴昌永. 胞外聚合物(EPS)对污水处理影响的研究进展[J]. 环境工程技术学报, 2021, 11(2): 307-313.
- TAN Y, FU LY, ZHOU J, LI M, WU CY. Research progress of the effects of extracellular polymeric substances (EPS) on wastewater treatment system[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2021, 11(2): 307-313 (in Chinese).
- [51] 母锐敏, 刘乐然, 祁峰, 马桂霞, 赵燕丽. 生物培养物的氮磷去除及生物质产出能力研究[J]. 山东建筑大学学报, 2019, 34(4): 1-6.
- MU RM, LIU LR, QI F, MA GX, ZHAO YL. Study on the capacity of nitrogen phosphorus removal and biomass production in bioculture[J]. Journal of Shandong Jianzhu University, 2019, 34(4): 1-6 (in Chinese).
- [52] 郝凯旋, 陈文兵, 母锐敏, 祁峰, 王洪波. 菌藻系统对废水中氮磷去除规律的研究[J]. 山东建筑大学学报, 2019, 34(5): 50-54.
- HAO KX, CHEN WB, MU RM, QI F, WANG HB. Study on the removal of nitrogen and phosphorus by bacteria and algae system[J]. Journal of Shandong Jianzhu University, 2019, 34(5): 50-54 (in Chinese).
- [53] 李硕, 彭永臻, 王然登. 胞外聚合物在污水生物处理中的作用[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2016, 33(4): 515-520.
- LI S, PENG YZ, WANG RD. The role of extracellular polymers substance in biological treatment of wastewater[J]. Journal of Natural Science of Heilongjiang University, 2016, 33(4): 515-520 (in Chinese).
- [54] 周健, 栗静静, 龙腾锐, 吴志高, 刘明月. 胞外聚合物EPS在废水生物除磷中的作用[J]. 环境科学学报, 2008, 28(9): 1758-1762.
- ZHOU J, LI JJ, LONG TR, WU ZG, LIU MY. Study on the action of extracellular polymeric substances (EPS) in biological phosphorus removal from wastewater[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2008, 28(9): 1758-1762 (in Chinese).
- [55] BRINZA L, DRING MJ, GAVRILESCU M. Marine micro and macro algal species as biosorbents for heavy metals[J]. Environmental Engineering and Management Journal, 2007, 6(3): 237-251.
- [56] GUO LP, ZHANG Y, LI WC. Sustainable microalgae for the simultaneous synthesis of carbon quantum dots for cellular imaging and porous carbon for CO₂ capture[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2017, 493:

- 257-264.
- [57] BALZANO S, SARDO A, BLASIO M, CHAHINE TB, DELL'ANNO F, SANSONE C, BRUNET C. Microalgal metallothioneins and phytochelatins and their potential use in bioremediation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 517.
- [58] 田莹莹, 赵京, 冯兵, 孙向辉. 基于藻类去除重金属的研究进展[J]. *昆明理工大学学报(自然科学版)*, 2020, 45(5): 97-104.
- TIAN YY, ZHAO J, FENG B, SUN XH. Research progress in the removal of heavy metal by algae[J]. *Journal of Kunming University of Science and Technology: Natural Science Edition*, 2020, 45(5): 97-104 (in Chinese).
- [59] 支田田, 程丽华, 徐新华, 张林, 陈欢林. 藻类去除水体中重金属的机理及应用[J]. *化学进展*, 2011, 23(8): 1782-1794.
- ZHI TT, CHENG LH, XU XH, ZHANG L, CHEN HL. Advances on heavy metals removal from aqueous solution by algae[J]. *Progress in Chemistry*, 2011, 23(8): 1782-1794 (in Chinese).
- [60] 李亚静, 王少坡, 刘璐, 贾丽媛. 有机负荷对污泥胞外聚合物(EPS)分泌特性及信号分子释放差异的影响[J]. *环境工程*, 2022, 40(2): 47-52.
- LI YJ, WANG SP, LIU L, JIA LY. Secretory characteristics of eps and the signal molecules release under different organic loading[J]. *Environmental Engineering*, 2022, 40(2): 47-52 (in Chinese).
- [61] LAVOIE A, de la NOÛE J. Harvesting of *Scenedesmus obliquus* in wastewaters: auto- or bioflocculation?[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1987, 30(7): 852-859.
- [62] ALJUBOORI AHR, UEMURA Y, THANH NT. Flocculation and mechanism of self-flocculating lipid producer microalga *Scenedesmus quadricauda* for biomass harvesting[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2016, 93: 38-42.
- [63] GUO SL, ZHAO XQ, WAN C, HUANG ZY, YANG YL, ASRAFUL ALAM M, HO SH, BAI FW, CHANG JS. Characterization of flocculating agent from the self-flocculating microalga *Scenedesmus obliquus* AS-6-1 for efficient biomass harvest[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 145: 285-289.
- [64] MANHEIM D, NELSON Y. Settling and bioflocculation of two species of algae used in wastewater treatment and algae biomass production[J]. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 2013, 32(4): 946-954.
- [65] 母锐敏, 赵燕丽, 马桂霞, 祁峰. 絮凝剂对小球藻采收和生物柴油制备影响研究[J]. *山东建筑大学学报*, 2018, 33(5): 18-23.
- MU RM, ZHAO YL, MA GX, QI F. Study on the influence of flocculants on chlorella vulgaris harvest and biodiesel production[J]. *Journal of Shandong Jianzhu University*, 2018, 33(5): 18-23 (in Chinese).
- [66] MA GX, MU RM, CAPAREDA SC, QI F. Use of ultrasound for aiding lipid extraction and biodiesel production of microalgae harvested by chitosan[J]. *Environmental Technology*, 2021, 42(26): 4064-4071.