

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2025.04.006

污水处理系统中藻/菌与藻-菌共生体胞外多糖研究进展

叶沁弋¹, 龚喜平¹, 张晓媛², 季斌¹

(1. 武汉科技大学 城市建设学院, 湖北 武汉 430065; 2. 南洋理工大学 南洋环境与水研究院, 新加坡)

摘要: 当前,藻-菌共生系统因其减污降碳特质受到广泛关注。胞外多糖在维持生物系统稳定性方面具有重要作用,但其特性缺乏系统论述。对污水处理系统中微藻/细菌胞外多糖的提取与纯化方法进行了综述,归纳了适合藻-菌共生体胞外多糖的提取纯化方法。对微藻/细菌胞外多糖的组成/结构进行了系统分析,并对未来研究方向进行了展望。藻-菌共生体胞外多糖的组成与结构取决于藻-菌质量比及其类群,其提取方法、精细结构、合成途径等有待进一步研究。此项工作可加深对藻/菌及藻-菌共生体胞外多糖的认识,为污水生物处理及资源化应用提供理论基础。

关键词: 污水处理; 藻-菌共生体; 胞外多糖

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2025)04-0034-05

Research Progress of Extracellular Polysaccharide of Microalgae/Bacteria and Microalgal-Bacterial Symbiosis in Wastewater Treatment System

YE Qin-yi¹, GONG Xi-ping¹, ZHANG Xiao-yuan², JI Bin¹

(1. School of Urban Construction, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China; 2. Nanyang Environment and Water Research Institute, Nanyang Technological University, Singapore)

Abstract: Microalgal-bacterial symbiosis systems have garnered significant attention for their potential to reduce pollution and carbon emissions. Extracellular polysaccharides play a significant role in maintaining the stability of biological systems, but their characteristics remain insufficiently explored. This review comprehensively examines the extraction and purification methods of extracellular polysaccharides from microalgae/bacteria in wastewater treatment systems and summarizes an optimized approach for microalgal-bacterial symbiosis. The composition and structure of extracellular polysaccharides from microalgae/bacteria are systematically analyzed, and the future research directions were envisioned. The composition and structure of the extracellular polysaccharides of the microalgal-bacterial symbiosis depend on the mass ratio of microalgae to bacteria, taxa. Additionally, the need for further investigation into the extraction methods, fine structure, biosynthetic pathways is emphasized. This work aims to advance the understanding of extracellular polysaccharides in microalgae/bacteria and microalgal-bacterial symbiosis systems, providing the theoretical basis for the integration of biological wastewater treatment and resource recovery.

Key words: wastewater treatment; microalgal-bacterial symbiosis; extracellular polysaccharide

通信作者: 季斌 E-mail: binji@wust.edu.cn

研究表明,藻-菌共生体在高效去除污水中有有机物和营养物的同时,有望实现水-能源-资源-碳中和。在藻-菌共生系统中,胞外多糖起到吸附架桥和生物胶的作用^[1],是胞外蛋白的附着点,能够有效束缚微生物细胞,在维持藻-菌共生关系及其系统稳定性方面起到重要作用。因此,深入研究藻/菌胞外多糖可进一步认识藻-菌共生系统,进而为藻-菌共生系统应用于污水资源化提供理论基础。

1 微藻/细菌胞外多糖的提取与纯化方法

1.1 胞外多糖的提取方法

胞外多糖的提取通常涵盖在胞外聚合物(EPS)提取中,最基础的方法是热提取法,加热温度为 60~80 ℃、加热时长为 30~60 min^[2-3]。在此基础上,衍生出了改性热提取、加热-Na₂CO₃等方法^[4-8]。改性热提取法可分为物理改性法和化学改性法两种,其中物理改性热提取法通常为微波^[4]或离心^[5]处理后,加热离心收集上清液,施加 2~30 min 频率为 200~2.45×10⁹ Hz 的微波^[4,9]进行辅助,其优势是短时间内产生高效均匀的热源,减少加热副产物的产生^[9];化学改性热提取法一般为氯化钠溶液清洗加热后离心收集上清液,其中氯化钠可促进阳离子交换以缩短提取时间^[4]。加热-Na₂CO₃法^[7-8]通过制造弱碱环境辅助加热,促进酸性多糖溶解^[5],可以在有限的细胞裂解下提高 EPS 产率^[8]。

对微藻/细菌胞外多糖的提取方法^[2-14]进行了总结,具体如表 1 所示。Felz 等^[7]指出好氧颗粒污泥(AGS)常用的 EPS 提取方法如离心、超声、EDTA、甲醛-NaOH 和甲酰胺-NaOH 都不能有效分离结构性 EPS,只有加热-Na₂CO₃法能够溶解 AGS 水凝胶基质以提取结构性 EPS。Li 等^[3]研究发现,阳离子交换树脂(CER)法可保留相对较高的天然蛋白质 α 螺旋比和分子间的氢键,保持 AGS 胞外多糖的凝胶性能。王雯彦等^[10]发现,甲醛-NaOH 法可用于厌氧氨氧化(Anammox)颗粒污泥胞外多糖的提取。需要注意的是,pH 过高会破坏糖蛋白的二硫键结合,使糖醛酸降解,因此提取 EPS 及纯化多糖时需控制合适的 pH。此外,提取步骤可进一步优化。Feng 等^[8]指出改变加热时间以及使用带膜的离心过滤装置代替浓缩和纯化步骤,可以显著改进加热-Na₂CO₃法。当样品类型不同时,需依情况对提取步骤进行调整。如同样采用离心法时,样品为小球藻的步骤为

离心培养基浓缩上清液并沉淀到酸化乙醇中,冷藏过夜后再次离心并溶于蒸馏水^[11],对于 AGS 则是离心颗粒后收集上清液^[7],而藻-菌共生体为离心后过滤上清液提取可溶性物质,清洗、重浮、水浴后再次离心并过滤^[11]。藻-菌共生体胞外多糖的提取现多采用改性热提取法^[6]或离心法^[11]等物理方法,但无法提取完全。结合上述藻/菌 EPS 提取方法,推测可采用微波-超声辅助下的加热-Na₂CO₃法以实现藻-菌共生体胞外多糖的高效提取。

表 1 微藻/细菌胞外多糖的提取方法

Tab.1 Extraction methods of extracellular polysaccharide from algae/bacteria

提取方法	样品类型	原理
物理法	离心法	小球藻
		AGS
		藻-菌共生体
	超声法	螺旋藻
		AGS
		Anammox 颗粒
化学法	热提取法	螺旋藻
		AGS
	碱提法	螺旋藻
		藻-菌颗粒污泥(MBGS)
		AGS
	改性热提取法	活性污泥
		Anammox 颗粒
		AGS
	CER 法	活性污泥
	EDTA 法	Anammox 颗粒/AGS
		加入 EDTA 螯合二价阳离子加速 EPS 溶解
	甲醛-NaOH 法	Anammox 颗粒/AGS
		加入甲醛以减少 NaOH 引起的细胞裂解
	加热-Na ₂ CO ₃ 法	Anammox 颗粒/AGS
		加入 Na ₂ CO ₃ 形成弱碱环境,以加速酸性多糖溶解

1.2 胞外多糖的纯化分离

为获得单一的胞外多糖组分,需去除 EPS 中的蛋白质、水溶性小分子等物质。对于微藻而言,Barboríková 等^[11]通过阴离子交换层析分离,附加凝胶渗透色谱(GPC)对小球藻胞外多糖进行分离,通过重复乙醇沉淀进行纯化。罗光宏等^[15]用大孔树脂分离螺旋藻粗多糖,依次用 0.1、0.3 和 0.5 mol/L 的 NaCl 溶液洗脱加以纯化。对于细菌而言,Felz 等^[7]通过透析得到了 AGS 胞外类多糖藻酸盐。

Seviour等^[1]使用十六烷基氯化吡啶(CPC)和甲醇对AGS胞外多糖进行分级沉淀,重新溶解于NaOH溶液后,用GPC分离后透析、冻干。Anammox颗粒EPS的提取可通过分级沉淀(如溶剂添加或酸性处理)回收,并通过透析或电泳/色谱技术纯化。对于藻-菌共生体而言,季斌等^[16]采用Sevag法去除蛋白质,利用DEAE-Sephadex离子柱、Sephacryl凝胶柱对MBGS胞外多糖进行多次分级纯化。对于游离胞外多糖,在提取前加入蛋白酶K、DNase和RNase去除蛋白质和核酸,离心酶解后的残基,用甲醇、甲醇/氯仿混合液(1:1,体积比)和氯仿连续洗涤后透析纯化^[17]。综上,归纳了藻-菌共生体胞外多糖的一般纯化分离方法,具体步骤为先使用蛋白酶等去除蛋白质和核酸,采用电泳法或离子交换色谱法进行初步分离,然后通过甲/乙醇分级沉淀或凝胶色谱进一步分离不同分子质量的多糖,经透析去除水溶性小分子物质后浓缩、冻干可获得纯化多糖。

2 微藻/细菌胞外多糖的组成与结构

通常采用分级沉淀法和阴离子交换色谱法、凝胶电泳法和三甲基硅基衍生物的质谱/质谱法测定胞外多糖的单糖组成,使用核磁共振法或红外光谱法分析聚合物结构。陈利华等^[18]采用傅里叶变换红外光谱和扫描电镜分析了硅藻类细胞粗多糖,发现其表面的氨基、酰胺基、羰基、羟基等官能团为藻/菌吸附重金属离子提供了可能。

胞外多糖的单体组成和分子质量影响着其结构,而结构又决定了其功能。细菌的胞外多糖通常通过糖苷键连接,肽聚糖、藻酸盐和纤维素通过 β -1,4-糖苷连接,淀粉、几丁质通过 α -1,4-糖苷连接^[6]。而微藻为适应环境会分泌多种胞外多糖,除小球藻和螺旋藻的胞外多糖为均聚物外,绝大多数微藻分泌杂多糖或共聚物,微藻分泌的杂多糖主要由半乳糖组成^[6],其主链通常包含葡萄糖醛酸和硫酸根残基^[19]。与细菌类似,在营养元素不平衡或者重金属胁迫等环境压力下微藻会分泌过多EPS,但微藻胞外多糖的分子质量普遍低于细菌^[19]。

2.1 微藻胞外多糖的组成与结构

纯培养微藻的EPS中胞外多糖含量较高^[20],Barboriková等^[11]指出小球藻的EPS是由6个单糖单元组成的复杂的一级结构,且具有高糖结合变异性及某些糖成分的部分甲基化衍生物的特征。Chen

等^[21]从丝状微藻 *Tribonema* sp. 中提取了分子质量为197 ku的硫酸化多糖,其主要单体物质为半乳糖,其次是木糖。González-Hourcade等^[20]对两种绿藻 *Trebouxia* sp. (TR9)和 *Coccomyxa simplex* (Csol)的胞外多糖的研究表明,TR9大多数胞外多糖的分子质量为12.5~218 ku,而Csol大多数酸性多糖则表现为中到低分子质量,其硫酸化多糖主要由D-半乳糖组成,胞外多糖可能的结构是具有6-O-甲基- β -双半乳糖呋喃糖残基的 $[(1\rightarrow5)-\beta\text{-D-Galf}-(1\rightarrow6)-\beta\text{-D-Galf}]$ 。蓝藻的胞外多糖较特殊,Rashmi等^[22]证实蓝藻EPS凝胶能够封存铀,Mota等^[23]指出 *Cyanothece* sp. 的硫酸化多糖为高度支化的复杂化学结构,其产生的氨基三聚糖,是由甘露糖、葡萄糖、糖醛酸、半乳糖、鼠李糖、木糖、岩藻糖和阿拉伯糖组成的阴离子硫酸化复杂结构,具有假塑性行为和乳化活性。

2.2 细菌胞外多糖的组成与结构

丁莉^[24]的研究发现, *Paenibacillus* sp. BY的EPS总糖含量为63.4%,不含硫酸根离子,其中酸性糖的重均分子质量为398.4 ku,单糖组成为岩藻糖(0.466%)、鼠李糖(0.110%)、阿拉伯糖(1.019%)、半乳糖(21.755%)、葡萄糖(33.815%)、木糖(0.983%)、甘露糖(25.557%)、半乳糖醛酸(12.925%)、葡萄糖醛酸(3.368%)。Xiao等^[25]指出 *Thraustochytrium striatum* 的胞外多糖由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和微量木糖组成,其主要结构键为 $1\rightarrow6\text{-}\beta\text{-glucan}$ 、 $1\rightarrow4\text{-}\alpha\text{-galactan}$ 和 $\text{L-}\alpha\text{-arabinose}$ 分链。Seviour等^[26]指出AGS的凝胶状胞外多糖可能是高度复杂的单个杂多糖,有 α -半乳糖、 α -鼠李糖、2-乙酰氨基-2-脱氧- α -吡喃半乳糖酸、 β -甘露糖、 β -半乳糖、 β -葡萄糖醛酸、 β -葡糖胺和N-乙酰- β -半乳糖胺的重复序列,具有附着在2-乙酰氨基-2-脱氧- α -吡喃半乳糖酸的 α -半乳糖和 β -葡萄糖的双糖分支,还有一个 α -鼠李糖分支附着在 α -半乳糖上。颗粒污泥中还存在许多其他种类的胶凝型胞外多糖,如Pronk等^[27]利用“酸提取法”在 γ -聚糖菌主导的AGS中提取的酸溶性EPS,含有由葡萄糖和半乳糖单体经 α -(1 $\rightarrow$ 4)糖苷键连接的胞外多糖。AGS胞外多糖在中性和酸性pH下以凝胶的形式存在,碱性条件下凝胶团聚体解开表现出支链放松的螺旋构象,类似组合状支链的螺旋转变是许多胞外多糖的凝胶特征^[26]。

2.3 藻-菌共生胞外多糖的组成与结构

Wei等^[12]指出 *Chlorella vulgaris* 与 *Mesorhizobium sangaii*(13218)的共培养系统结合多糖的浓度高于纯藻,表明多糖的增加可增强藻-菌共生关系,利于藻-菌共培养系统的稳定。研究^[16]表明,MBGS的EPS中胞外多糖主要分布在紧密结合型EPS中,主要包含岩藻糖、阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、核糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸和甘露糖醛酸。半乳糖为其主要单体物质,其次为葡萄糖和鼠李糖。可以看出,MBGS的胞外多糖与细菌胞外多糖的组成存在显著差异。藻-菌共生体的胞外多糖与微藻胞外多糖相似度较高,主要单体物质均为半乳糖。推测其由藻-菌质量比决定,藻-菌质量比越大,其胞外多糖特性更接近藻类的胞外多糖。

3 结语

通过分析藻/菌胞外多糖的组成和结构,发现藻-菌共生胞外多糖的组成与结构取决于藻-菌比及其类群,但目前对藻-菌共生胞外多糖的研究有限,阻碍了其工程应用。分析认为,今后应在以下方向进一步探索:①开发细胞裂解率更低、纯度更高的胞外多糖提取方法;②探究胞外多糖的精细结构,解密其结构和功能的关系;③研究藻/菌胞外多糖的合成途径,建立胞外多糖与微生物种类及藻-菌质量比的定量关系;④探究胞外多糖与胞外蛋白的联合作用及其维持藻-菌共生体稳定性的机制。

参考文献:

- [1] SEVIOUR T, DERLON N, DUEHOLM M S, *et al.* Extracellular polymeric substances of biofilms: suffering from an identity crisis[J]. *Water Research*, 2019, 151: 1-7.
- [2] WANG B Y, LIU Q, HUANG Y H, *et al.* Extraction of polysaccharide from *Spirulina* and evaluation of its activities [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 2018: 3425615.
- [3] LI Z W, LIN L, LIU X, *et al.* Understanding the role of extracellular polymeric substances in the rheological properties of aerobic granular sludge[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 705: 135948.
- [4] YUAN Y, XU X, JING C L, *et al.* Microwave assisted hydrothermal extraction of polysaccharides from *Ulva prolifera*: functional properties and bioactivities [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 181: 902-910.
- [5] YANG X L, XU T G, CAO P, *et al.* The viscosity behaviors of bacterial suspensions or extracellular polymeric substances and their effects on aerobic granular sludge [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2019, 26(29): 30087-30097.
- [6] 龚喜平, 季斌, 肖美星, 等. 藻-菌颗粒污泥胞外聚合物及其表面特性研究[J]. *环境科学学报*, 2021, 41(12): 4888-4893.
- [7] GONG Xiping, JI Bin, XIAO Meixing, *et al.* Study on the extracellular polymeric of the microalgal-bacterial granular sludge and its surface characteristics[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2021, 41(12): 4888-4893 (in Chinese).
- [7] FELZ S, AL-ZUHAIRY S, AARSTAD O A, *et al.* Extraction of structural extracellular polymeric substances from aerobic granular sludge [J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2016, 115: 54534.
- [8] FENG C J, LOTTI T, LIN Y M, *et al.* Extracellular polymeric substances extraction and recovery from anammox granules: evaluation of methods and protocol development[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 374: 112-122.
- [9] BOUANATI T, COLSON E, MOINS S, *et al.* Microwave-assisted depolymerization of carrageenans from *Kappaphycus alvarezii* and *Eucheuma spinosum*: controlled and green production of oligosaccharides from the algae biomass [J]. *Algal Research*, 2020, 51: 102054.
- [10] 王雯彦, 王兰, 王茹, 等. 厌氧氨氧化污泥胞外多糖的提取方法比较研究[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(12): 105-112.
- [10] WANG Wenyan, WANG Lan, WANG Ru, *et al.* Comparative study on the extraction methods of extracellular polysaccharide substances from Anammox sludge[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 44(12): 105-112 (in Chinese).
- [11] BARBORÍKOVÁ J, ŠUTOVSKÁ M, KAZIMIEROVÁ I, *et al.* Extracellular polysaccharide produced by *Chlorella vulgaris*-chemical characterization and anti-asthmatic profile[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 1-11.
- [12] WEI Z J, WANG H N, LI X, *et al.* Enhanced biomass and lipid production by co-cultivation of *Chlorella*

- vulgaris* with *Mesorhizobium sangaii* under nitrogen limitation[J]. Journal of Applied Phycology, 2019, 32(1):233-242.
- [13] YANG F, QU J W, HUANG X X, *et al.* Phosphorus deficiency leads to the loosening of activated sludge: the role of exopolysaccharides in aggregation[J]. Chemosphere, 2022, 290:133385.
- [14] WANG B B, LIU X T, CHEN J M, *et al.* Composition and functional group characterization of extracellular polymeric substances (EPS) in activated sludge: the impacts of polymerization degree of proteinaceous substrates[J]. Water Research, 2018, 129:133-142.
- [15] 罗光宏, 王海蓉, 崔晶, 等. 微波辅助低共熔溶剂提取、部分纯化螺旋藻多糖及其体外生物学活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(11):107-113.
- LUO Guanghong, WANG Hairong, CUI Jing, *et al.* Microwave-assisted deep eutectic solvents extraction, partial purification and in vitro biological activity of polysaccharides from *Spirulina platensis* [J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(11):107-113 (in Chinese).
- [16] 季斌, 龚喜平. 藻-菌颗粒污泥中微生物胞外多糖特性研究[J]. 环境科学学报, 2022, 42(11):117-122.
- JI Bin, GONG Xiping. Study on the characteristics of extracellular polysaccharides from the microalgal-bacterial granular sludge [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2022, 42(11):117-122 (in Chinese).
- [17] LE C C, STUCKEY D C. Influence of feed composition on the monomeric structure of free bacterial extracellular polysaccharides in anaerobic digestion[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(12):7009-7017.
- [18] 陈利华, 王欣, 成家杨. 硅藻类粗多糖生物剂的制备及其对Cd²⁺的吸附性能[J]. 环境科学研究, 2018, 31(8):1439-1449.
- CHEN Lihua, WANG Xin, CHENG Jiayang. Preparation of crude polysaccharide biological agent from diatom and its adsorption of cadmium ions [J]. Research of Environmental Sciences, 2018, 31(8):1439-1449 (in Chinese).
- [19] XIAO R, ZHENG Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(7):1225-1244.
- [20] GONZÁLEZ-HOURCADE M, CAMPO E M, BRAGA M R, *et al.* Disentangling the role of extracellular polysaccharides in desiccation tolerance in lichen-forming microalgae. First evidence of sulfated polysaccharides and ancient sulfotransferase genes [J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(8):3096-3111.
- [21] CHEN X L, SONG L, WANG H, *et al.* Partial characterization, the immune modulation and anticancer activities of sulfated polysaccharides from filamentous microalgae *Tribonema* sp. [J]. Molecules, 2019, 24(2):322.
- [22] RASHMI V, DARSHANA A, BHUVANESHWARI T, *et al.* Uranium adsorption and oil emulsification by extracellular polysaccharide (EPS) of a halophilic unicellular marine cyanobacterium *Synechococcus elongatus* BDU130911 [J]. Current Research in Green and Sustainable Chemistry, 2021, 4:100051.
- [23] MOTA R, VIDAL R, PANDEIRADA C, *et al.* Cyanoflan: a cyanobacterial sulfated carbohydrate polymer with emulsifying properties [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 229:115525.
- [24] 丁莉. 一株细菌胞外多糖的分离纯化及其抗氧化活性研究[D]. 西安:西北大学, 2021.
- DING Li. Isolation, Purification and Antioxidant Activity of Exopolysaccharide from a Bacterial Strain [D]. Xi'an:Northwest University, 2021 (in Chinese).
- [25] XIAO R, YANG X, LI M, *et al.* Investigation of composition, structure and bioactivity of extracellular polymeric substances from original and stress-induced strains of *Thraustochytrium striatum* [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 195:515-524.
- [26] SEVIOUR T, LAMBERT L K, PIJUAN M, *et al.* Structural determination of a key exopolysaccharide in mixed culture aerobic sludge granules using NMR spectroscopy[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(23):8964-8970.
- [27] PRONK M, NEU T R, VAN LOOSDRECHT M C M, *et al.* The acid soluble extracellular polymeric substance of aerobic granular sludge dominated by *Deftuicoccus* sp. [J]. Water Research, 2017, 122:148-158.

作者简介:叶沁弋(2000-),女,湖北黄冈人,硕士研究生,主要研究方向为污水生物处理。

E-mail:1816170124@qq.com

收稿日期:2022-09-23

修回日期:2022-11-18

(编辑:丁彩娟)