

DOI: 10.11835/j.issn.2096-6717.2025.037



开放科学(资源服务)标识码 OSID:



孔隙介质中生物膜形态及堵塞模式对渗透率的影响规律

彭瑞, 胡冉, 陈益峰

(武汉大学 水资源工程与调度全国重点实验室; 水工岩石力学教育部重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 孔隙介质中微生物堵塞现象广泛存在于自然环境和工程实践中, 是环境、能源及基础医疗等领域的共性问题。为明确该过程中的生物膜形态与堵塞机制, 利用微流体模型-显微镜-CMOS 相机可视化实验平台, 研究孔隙结构与流速对生物膜团簇行为及介质渗透率演变特征的影响, 并结合显微粒子图像测速技术, 实现孔隙介质内流场的实时动态观测。结果表明: 流速与孔径通过影响剪切速率和营养物质交换速率来控制生物膜形态和最终堵塞效率。孔隙介质微生物堵塞呈现出有优势通道(堵塞模式 I)和无优势通道(堵塞模式 II)两种模式。堵塞模式 I 出现在较低流速、较大孔径条件下, 流体主要沿优势通道流动, 流速分布不均匀性随时间不断加剧, 渗透率下降呈现明显间歇性波动。模式 II 出现在较高流速、较小孔径条件下, 流场分布相对均匀, 渗透率呈平稳下降趋势, 堵塞效应更为显著, 实验结束时渗透率下降 3 个数量级。

关键词: 孔隙介质; 微生物堵塞; 渗透率; 优势通道; 生物膜形态

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 2096-6717(2026)03-0109-10

Effect of biofilm morphology and clogging patterns on permeability of porous media

PENG Rui, HU Ran, CHEN Yifeng

(State Key Laboratory of Water Resources and Hydropower Engineering Science; Key Laboratory of Rock Mechanics in Hydraulic Structural Engineering of the Ministry of Education, Wuhan University, Wuhan 430072, P. R. China)

Abstract: The phenomenon of bioclogging in porous media is widely present in nature and engineering and is closely related to fields such as the environment, energy, and biomedical applications. In this work, we focus on the bioclogging process in porous media and investigate the effects of flow rate and pore size on the behavior of biofilm clusters and the evolution of permeability using a microfluidic chip-microscope-CMOS camera visualization experimental system. By integrating the microparticle image velocimetry technique, we achieved real-time dynamic observation of the flow field within porous media. Flow-visualization experimental results show that flow rate and pore size control the surface morphology and ultimate clogging efficiency of biofilms by influencing shear rates and nutrient exchange rates. It is shown that bioclogging in porous media presents two

收稿日期: 2025-02-05

基金项目: 国家自然科学基金(52379107, 52494972)

作者简介: 彭瑞(2000-), 女, 主要从事孔隙介质微生物堵塞研究, E-mail: peng_rui@whu.edu.cn。

胡冉(通信作者), 男, 教授, 博士生导师, E-mail: whuran@whu.edu.cn。

Received: 2025-02-05

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (Nos. 52379107, 52494972)

Author brief: PENG Rui (2000-), main research interest: bio-clogging in porous media, E-mail: peng_rui@whu.edu.cn.

HU Ran (corresponding author), professor, doctoral supervisor, E-mail: whuran@whu.edu.cn.

distinct clogging patterns, characterized by pattern I with preferential flow paths and pattern II without preferential flow paths. Pattern I occurs under conditions of a smaller flow rate and larger pore size, where the fluid mainly flows concentrately in the preferential flow paths. The unevenness of the flow rate distribution is exacerbated over time, affecting the stability of clogging, and the permeability decline shows obvious intermittent fluctuations. Pattern II occurs under conditions of a higher flow rate and smaller pore size, and the flow field distribution is relatively uniform with no obvious high-speed concentrated areas. In this pattern, the clogging effect is much more significant, with the permeability ratio being reduced by three orders of magnitude at the end of the experiments.

Keywords: porous media; bioclogging; permeability; preferential flow paths; biofilm morphology

生物膜是微生物存在的一种普遍形式,由微生物细胞及其分泌的胞外聚合物(EPS)相互黏结并附着于物体表面形成生物群落^[1-2]。与游离态或非生物膜附着态的微生物相比,生物膜的胞外聚合物可保护微生物免受外界干扰(如营养物质波动、机械和化学损伤),显著增强其对外界环境变化的适应性和响应速度^[3-5]。生物膜技术在环境、工业和医疗领域均有着举足轻重的地位。微生物常可黏附于皮肤、口腔、食品加工设备及医疗器械等表面^[6],其形成往往有利有弊。一方面,生物膜会增加病原菌的存在,提高微生物耐药性,并导致生物膜相关感染^[7-9]。在环境治理方面,用于人工地下水回灌的地表水通常含有大量微生物,其生长繁殖会逐渐堵塞土壤孔隙,导致回灌系统运行效率大幅降低^[10]。另一方面,生物膜技术已被广泛应用于市政与工业废水处理、重金属及有机污染土壤修复等领域^[11-15]。原位微生物修复技术利用微生物对粉砂、细粉砂、粉土等广泛分布的土体进行微观结构加固,降低其孔隙度与渗透性,从而抑制污染物的扩散^[16]。在微生物岩土加固(MICP)领域,通过生物过程诱导形成碳酸盐、硫酸盐等矿物沉淀,可有效改善土体的物理力学及工程性质^[17-20]。在移动床生物膜反应器(moving-bed biofilm reactor, MBBR)中,生物膜能有效去除废水中的污染物和过量营养物质^[21-23]。在石油工业领域,利用生物膜能选择性堵塞高渗透区域,引导流体转向低渗透区域,再通过注入水或超临界二氧化碳等流体采出低渗透层中的残余石油,提高原油采收率^[24-25]。在可持续能源领域,生物膜也是微生物燃料电池(MFC)的研究热点^[26-28]。因此,研究孔隙介质中生物膜的发展及其与流体流动的相互作用对多项工程技术的应用具有重要意义。

大量研究表明,生物膜形态取决于介质类型、流动条件和营养供给等多种因素。在静止条件下(如琼脂平板上),微生物可形成致密的生物膜菌落,其厚度可达几百微米,同时向四周扩散至几厘米直径,并形成宏观褶皱结构^[29-30]。但在有流体流

动的条件下,微生物会形成致密、分层的生物膜或生物膜丝状体^[31-34]。孔隙介质中生物膜的发展过程如下:微生物细胞附着于介质颗粒表面,通过快速繁殖形成生物膜团簇,最终堵塞孔隙。微生物分泌的胞外聚合物包括蛋白质、糖类、核酸、脂质等生物大分子,共同构成生物膜的骨架结构。该结构使生物膜具有复杂的流变特性,使其在遭受剪切变形时仍能保持结构稳定^[35-36]。生物膜可改变孔隙介质的多个物理特性,如微生物生长会改变介质孔隙度,影响其渗流特性^[37];还能使介质内的渗流状态由饱和变为非饱和,并形成优先流动通道^[38-39]。同时,渗流水力条件也会影响微生物的生长以及生物膜的形态与分布^[3,40-43]。

最初关于孔隙介质微生物堵塞的研究大多基于“黑箱实验”^[44-47]。Okubo等^[44]通过砂柱实验研究了入渗速率对生物堵塞及化学需氧量(COD)去除效果的影响。Wu等^[45]研究了生物膜生长对土柱渗透特性的影响,并在实验结束时采用破坏性采样测定土壤表面附着生物量的分布。上述研究仅通过渗透率及进出水水质等表观现象的变化来推断孔隙介质内部的微生物堵塞情况,未对堵塞全过程开展系统研究,细观与宏观层面缺乏关联。已有研究表明,在一定流速条件下,孔隙介质内的微生物通过快速繁殖与迁移形成优势通道,注入流体主要沿由孔隙介质和生物膜构成的复合结构流动^[48-50]。研究还揭示了优势通道的反复开启与闭合现象,证明优势通道的间歇性特征是微生物生长与流体剪切相互竞争的结果。然而,目前针对优势通道的形成条件仍缺乏系统探讨,孔隙介质内微生物生长与流体剪切的相互作用机制及优势通道的形成机制仍需进一步研究。

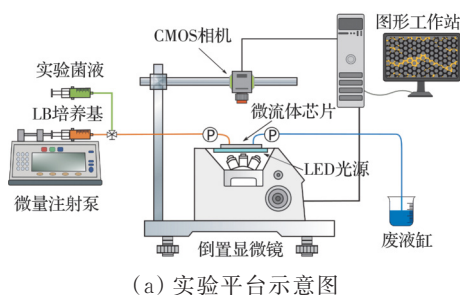
笔者以枯草芽孢杆菌为单一菌株进行生物膜培养。基于自主研发的微流体模型-显微镜-CMOS相机多尺度实时动态观测平台,系统开展孔隙介质的微生物诱导堵塞实验,研究不同流速与孔隙结构条件下的微生物堵塞模式,通过实时监测进出口压

差,并结合生物膜团簇聚类分析,阐释不同堵塞模式下渗透率的演化特征和生物膜形态特征。为探讨不同堵塞模式下流场分布的差异,还开展了Micro-PIV测速实验。

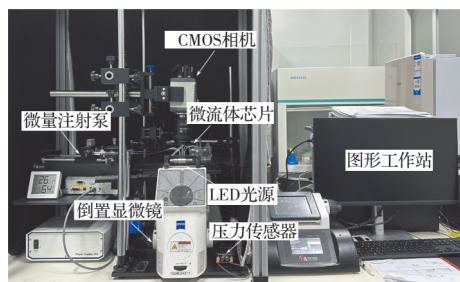
1 实验装置与方法

1.1 孔隙介质微生物堵塞可视化实验平台

为实现孔隙介质微生物堵塞过程的实时动态观察与多尺度表征,研发了微生物堵塞可视化实验平台(图1)。该平台由透明孔隙微流体芯片、流量



(a) 实验平台示意图



(b) 实验装置实物图

图1 微生物堵塞可视化实验平台

Fig. 1 Visualization experiment system for bio clogging

控制系统、光学成像系统及数据采集系统组成。其中,流量控制系统包含哈佛泵(Harvard Ph. D. Apparatus)、无菌注射器(BD syringe,美国)、连接各流体动力源的微流管路(PEEK tube, LabSmith, 美国)和流体转换阀,哈佛泵的流量误差控制在0.25%以内,能在0.01~1.00 mL/h量程内实现精确调控。光学成像系统采用CMOS相机(Flash 4.0 V3, HAMAMATSU, 日本),其拍摄帧率为100帧/s,空间分辨率为6.5 $\mu\text{m}/\text{pixel}$,能保证在宏观尺度下高精度采集微生物堵塞形态图像。在实验的特定时刻,采用倒置显微镜可捕捉微观尺度下孔隙介质局部生物膜的形态变化。CMOS相机和倒置显微镜的联合使用实现了实验所需的多尺度实时动态观测。整个实验在室温((25.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$)条件下进行,并对实验装置进行遮光处理,以避免外界光照对实验过程产生干扰。

1.2 孔隙微流体模型的制备

二维孔隙微流体芯片用聚二甲基硅氧烷PDMS

(Sylgard 184, Dow-Corning, 美国)制作。芯片选取三角形网络孔隙排布结构,即构成孔隙排布的每个圆柱体底面圆心位于等边三角形的顶点位置^[51-53]。为研究孔隙大小对微生物堵塞实验的影响,通过MATLAB程序生成3种不同的孔隙分布结构(孔隙尺寸为3 mm $\times$ 6 mm,圆柱直径分别为87.5、175、350 μm)。微流体模型采用紫外光刻技术加工制作,整个制备过程分为5个步骤:1)打印带有芯片几何形状的掩模;2)以2 000 r/min的速度涂阴性光刻胶30 s,形成厚40 μm 的薄膜,然后在掩模遮挡下进行紫外线(UV)曝光,制备带有图案的硅板;3)去除多余光刻胶并显影微流体通道;4)将PDMS浇筑于微流体模具上,实现微通道的复刻;5)采用等离子清洗机(PDC-002, Harrick Plasma, 美国)对带有微通道结构的PDMS薄片进行键合处理。实验所用微流体模型长6 mm、宽3 mm,圆柱直径 d 分别为87.5、175、350 μm ,模型孔隙体积(PV)为0.396 μL ,孔隙率为0.55。具体实验条件及对应重复组数如表1所示。

表1 实验条件的设置及重复组数

Table 1 Settings of experimental conditions and replicate groups

$d/\mu\text{m}$	重复组数		
	0.01 mL/h	0.10 mL/h	1.00 mL/h
350	2	2	3
175	4	2	4
87.5	2	2	2

1.3 实验方法

1.3.1 菌液制备

实验选用的微生物是野生型枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 3610,菌株编号为CGMCC1.3358,购于中国普通微生物菌种保藏管理中心(China General Microbiological Culture Collection Center, CGMCC)。枯草芽孢杆菌属于革兰氏阳性细菌,广泛分布于土壤和水环境中。该菌株在基因操作、模式研究以及生物膜形成特性等方面具有显著优势,是研究生物膜形成机制与调控规律的理想菌株^[54-56]。实验菌液的制备步骤为:用LB培养基(胰蛋白胨10 g/L、酵母提取物5 g/L、氯化钠10 g/L)进行细菌培养,将冷冻甘油菌接种至LB培养基中,在30 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min条件下摇床过夜培养。每次实验开始前,将菌液按1:1 000的比例再次接种到LB培养基中,摇床培养3~4 h,直至微生物生长进入指数生长期初期($\text{OD}_{600}=0.1$)。

1.3.2 实验流程

按照图1所示方式安装微流体芯片,利用

Tygon软管(外径 1 mm,内径 0.5 mm)、流体转换阀和平头钢针(外径 0.6 mm)将哈佛泵、压力传感器与微流体芯片相连。每次实验前,以 0.10 mL/h 的流速向芯片内缓慢注入体积分数为 75% 的酒精,对整个实验系统灭菌处理 1 h。随后通过转换阀将注入流体切换成 LB 培养基并持续注入 3 h,该步骤的目的是彻底清除系统内残余酒精,在避免杂菌污染的同时为微生物提供适宜的生长环境。需要注意的是,整个实验过程应保证芯片内部始终处于饱和状态。灭菌结束后,以相同流速向芯片内注入 200 μ L 预先制备的细菌悬液,注入完成后静置 3 h,使微生物细胞在孔隙介质表面成功附着。再通过转换阀将注入流体切换为 LB 培养基,以实验所需流速持续注入 45 h。实验期间开启 LED 光源和 CMOS 相机,每隔 6 min 采集一次实验图像。实验结束后,通入经胭脂红染色的去离子水,以便后续提取孔隙微流体圆柱颗粒的灰度图像。

1.3.3 生物膜团簇分析

为准确识别生物膜团簇,在 MATLAB 软件中将每张图像减去对应初始图像,完成归一化处理,采用大津算法(Otsu method)实现图像二值化,根据视觉观测的生物膜轮廓确定阈值($I_s=0.875$)。为减少图像噪声的干扰,剔除二值图中像素小于 100 (对应 1 140 μm^2)的颗粒,便于后续聚类分析。选取 4 个指标对微生物堵塞的发展过程进行分析,分别为生物膜总面积 A_t 、生物膜平均面积 A_m 、团簇数量 N_c 以及分形维数 D_f 。

1.3.4 水力特性计算

根据达西定律,孔隙介质的渗透率 k 可表示为

$$k = \frac{Q\mu L}{\Delta p A}$$

式中: Q 为流量, m^3/s ; μ 为流体动力黏度,取 1.02 $\text{mPa}\cdot\text{s}$; L 为孔隙介质模型沿流动方向的长度,取 6 mm; Δp 为进出口压差, Pa; A 为横截面面积,取 0.12 mm^2 。

2 实验结果与讨论

2.1 生物膜分布及生长形态

为清晰观测生物膜形态,采用 CMOS 相机实时检测孔隙微流体芯片内微生物的生长过程。图 2 为不同流速条件下的微生物堵塞时程图(以孔径 $d=350 \mu\text{m}$ 为例),其中黄色表示圆柱颗粒,灰色表示生物膜,白色表示流体通道,流体注入方向为自左向右。选取长宽均为 1.5 mm 的局部区域,用以分析不同流速下生物膜分布与生长形态随时间的演变

特征。

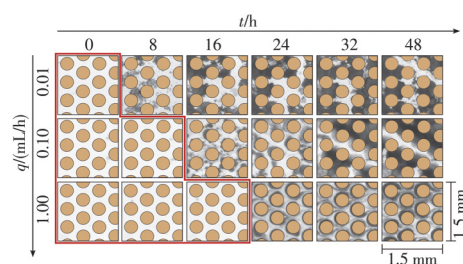


图 2 孔隙介质微生物堵塞实验时程图

Fig. 2 Time-course diagram of bioclogging experiment in porous media

在微生物初始附着阶段,受孔隙介质表面性质及流体剪切作用等因素影响,微生物难以在介质表面大量附着。同时,微生物生长处于迟缓期,菌体代谢系统需逐步适应新环境,因此细胞数量未显著增加。此阶段,不同流速条件下的孔隙介质内均未观察到生物膜的形成。

在微生物快速繁殖阶段,不同流速条件下均能观察到生物膜的形成,但随着流速的增大,生物膜的形成速度明显减缓。这是由于流速越大,流体剪切作用越剧烈,而初期生物膜尚未形成稳定致密结构,易被流体剪切脱落。在较小流速条件下($q=0.01 \text{ mL/h}$),微生物大多随机分散于孔隙内,除圆柱表面有少量微生物外,其余多在孔隙内生长并形成小型生物团聚体;而在较高流速条件下($q=1.00 \text{ mL/h}$),微生物主要附着于圆柱表面并绕柱生长,在较强剪切力作用下逐渐形成拖曳形态。

在微生物堵塞稳定阶段,微生物生长基本进入稳定期。在较小流速条件下($q=0.01 \text{ mL/h}$),部分孔喉被生物膜完全堵塞,形成死端,而未被完全堵塞的孔喉逐渐形成相互连通的优势通道,流体主要沿优势通道流动。值得注意的是,当流速增大至 $q=1.00 \text{ mL/h}$ 时,受流体剪切作用增强的影响,大部分生物膜仅能附着于圆柱表面生长,孔喉区域几乎未出现局部堵塞现象。实验达到稳定状态后,圆柱表面形成一层极为致密的生物膜,其形态不规则且偏向流体流动方向。圆柱周围的生物膜相互连接,形成三维网状结构^[57],显著增加了流体流动的阻力,致使孔隙介质渗透率大幅降低。

生物膜总面积 A_t 描述了孔隙介质微生物堵塞过程中生物量的累积情况,其变化趋势与微生物生长曲线一致,可分为 3 个阶段(图 3(a))。前期微生物代谢系统需要适应新环境,生长速度缓慢,处于迟缓期(阶段 I);随后微生物生长进入指数增长期,细胞增殖速度达到最快(阶段 II);随着营养物质消耗与代谢废物积累,微生物逐渐进入稳定期

(阶段Ⅲ)。尽管不同孔径的微流体芯片初始孔隙率相同,但在相同流速条件下($q=0.01$ mL/h),孔径越小,生物膜总面积增长越快,孔隙介质堵塞速度也越快。这是由于小孔径芯片具有更大的总表面积,可为微生物提供更多附着位点;同时,筛滤效应在一定程度上加剧了堵塞。

上述结论还可通过团簇数量 N_c 随时间演变的曲线得到验证。实验前期,孔径越小,团簇数量越多。在 $d=87.5$ μm 条件下, N_c 最高可达185,远高于其他实验条件(图3(b))。所有实验条件下, N_c 均随时间的推移逐渐增加,直至生物膜团簇相互接触并凝聚形成新团簇,因此 N_c 在到达峰值后逐渐下降。3种不同实验条件下团簇数量变化的拐点基本出现在同一时间,由此可知,团簇的凝聚过程在很

大程度上与孔径和流速无关。

生物膜总面积和团簇数量共同决定了平均团簇面积 A_m (图3(c)),在实验前期,不同条件下的平均团簇面积相似,均维持在较低水平。而在实验后期,较低流速条件下($q=0.01, 0.10$ mL/h)的平均团簇面积 A_m 始终大于较高流速条件($q=1.00$ mL/h),表明流速对平均团簇面积具有显著控制作用。低流速能够促进生物膜团簇间的凝聚,因而形成更大的平均团簇面积。

利用分形维数 D_f 进一步量化生物膜与流体流动界面的粗糙度,以反映流体与生物膜接触时流动阻力的变化(图3(d))。在所有实验条件下,从 $t=4$ h到 $t=48$ h, D_f 从1.05~1.13升高到1.71~1.84, D_f 随时间不断增大,表明孔隙介质界面变得更加粗糙。在相同流速下,孔径越小($d=87.5$ μm), D_f 越大。

综上所述,较小孔径条件下孔隙介质堵塞速度更快,一方面是由于筛滤效应,另一方面则是小孔径芯片可为微生物细胞提供更多附着位点。此外,有研究表明,生物膜生长过程中累积的机械应力会影响团簇的形态改变,包括生物膜的脱落与凝聚^[58-59]。生物膜生长与流体剪切应力之间的相互作用决定了实验后期优势通道能否形成。

2.2 孔隙介质微生物堵塞模式分析

优势通道是指流体在孔隙介质内流动时受孔隙结构非均质性和连通性差异的影响,更倾向于沿某些特定路径流动。选取的3种孔隙微流体芯片均为均质结构,实验初期并未形成优势通道。但随着微生物在孔隙内不断生长,仅在较小流速、较大孔径实验条件下观察到优势通道的形成(图4(a))。这是由于在该条件下,孔隙间流体剪切应力较小,生物膜主要以斑块形态(图4(b))在初始附着位点固定生长,逐渐与相邻生物膜融合,形成更大团簇,致使大部分孔隙被完全堵塞,大部分流体只能沿优势通道排出。虽然优势通道内生物膜大量繁殖,但此时剪切应力的影响远大于生物膜生长速率的影响。随着优势通道不断变窄,剪切应力不断增大,最终将生物膜剥离,这种动态平衡使得优势通道的宽度和位置不断变化。而当流速增大或孔径变小时,孔隙间流体剪切应力也相应增大,生物膜主要以丝状形态在孔隙内均匀分布生长。此时孔隙内营养物质交换更快,形成的生物膜更加致密;实验后期,圆柱表面大多被生物膜紧密覆盖,孔隙间生物膜相互连接,形成三维网状结构,但未完全堵塞孔隙,因此未形成优势通道。

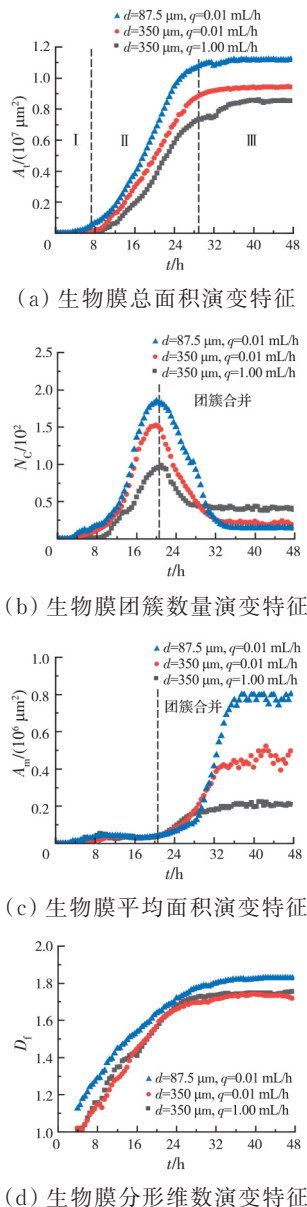
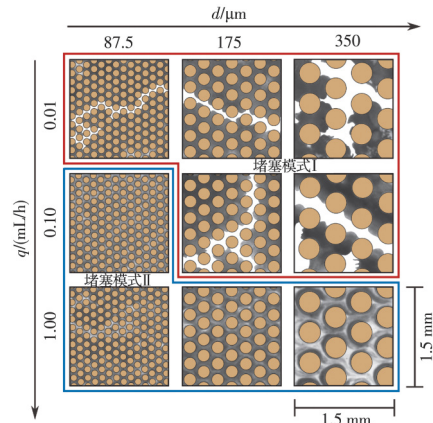
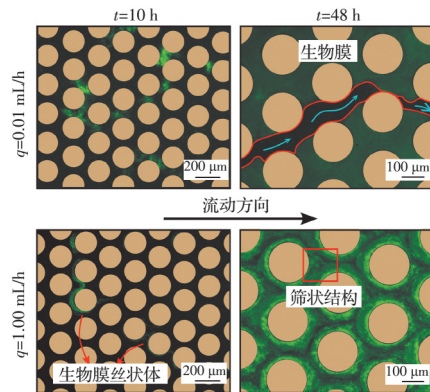


图3 生物膜团簇行为分析

Fig. 3 Analysis of biofilm cluster dynamics



(a) 不同实验条件下微生物堵塞模式相图



(b) 两种堵塞模式的发展规律

图 4 孔隙介质微生物堵塞的两种模式

Fig. 4 Two patterns of bioclogging in porous media

2.3 流场分析

为探讨有优势通道和无优势通道两种堵塞模式的差异,进一步开展 Micro-PIV 测速实验,提取不同模式下的流场演变信息。微生物堵塞实验完成后,通过转换阀将 LB 培养基切换为掺有荧光微球 (Thermo Scientific, 2 μm) 的 LB 培养基。荧光微球在波长小于其发射波长的光照射下能发出明亮且独特的荧光,利用 CCD 相机可获得清晰的粒子图像,后续基于 LaVision DaVis 10.0 软件平台进行分析和计算^[60-61]。

图 5 直观地展示了孔隙介质内生物堵塞引发的压力间歇性升降及其对应的流场分析结果。随着实验的推进,孔隙介质堵塞系统内的压力呈间歇性波动,图中标注的 6 个关键点反映了压力缓慢上升与快速下降的变化过程。该现象表明,微生物堵塞在孔隙介质内的形成和发展具有复杂性和不稳定性。通过 Micro-PIV 测速实验对不同时刻流场进行分析,并统计沿 y 轴的速度分布情况,为深入揭示生物堵塞机理提供了重要的实验证据和可视化支持。流体集中于优势通道内流动会导致压力分布不均匀,且该不均匀性随时间不断加剧,影响堵塞系统

的稳定性。通过实时监测压力变化,可间接识别孔隙介质堵塞程度及优势通道开闭频率。压力升高对应优势通道束窄(图 5A-B、C-D、E-F),该过程主要由微生物生长驱动,较为缓慢(1~3 h);压力降低对应优势通道扩张(图 5B-C、D-E),流体的剪切作用使得部分生物膜脱落,进而促使通道扩张,该过程通常在极短时间内完成。

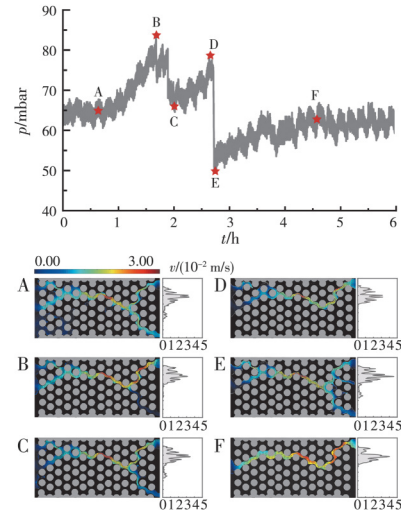


图 5 Micro-PIV 流场分析(堵塞模式 I)

Fig. 5 Micro-PIV-based fluid field analysis (clogging pattern I)

对于堵塞模式 II,在微生物堵塞尚未形成优势通道时,流场分布相对均匀,无明显高速集中区域,相应压力变化较为平缓,几乎未出现间歇性升高或下降(图 6)。

2.4 渗透特性演变特征

为进一步探究孔径与流速对孔隙介质生物堵塞效率的影响,采用归一化渗透率(k/k_0)对比不同实验条件下的堵塞效率。结果表明,整个实验过程中介质渗透率均逐步或波动下降,堵塞系统的渗透率存在间歇性恢复。由图 6 可知,在 $q=1.00$ mL/h、 $d=87.5$ μm 条件下,渗透率波动幅度显著小于其他条件,此时生物膜所受剪切应力与其生长速率趋于平衡,不会轻易脱落。在 $d=87.5$ μm 时, k/k_0 的初始下降出现在 8~12 h,早于 $d=175$ 、350 μm 时的 16~20 h,表明流速不会影响 k/k_0 的初始下降。实验结束时,在 $d=87.5$ μm、 $q=1$ mL/h 条件下, k/k_0 的下降更为显著,达到 0.003 8。

从图 4 可知,在各实验条件下生物膜形态各异,但均会因生物膜在孔隙间生长而发生堵塞。流速和孔径对生物膜形态的影响主要体现在孔隙间剪切速率与营养物质供给速率上。当流速减小、孔径增大时,剪切速率与营养物质交换速率均较低,生物膜沿流动方向生长相对均匀、稀疏;堵塞发生后,

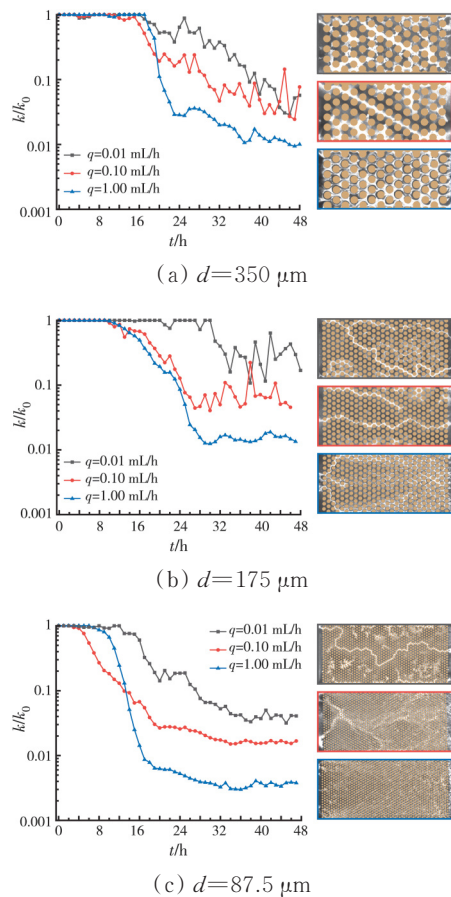


图6 孔隙介质微生物堵塞实验渗透率演变曲线
Fig. 6 Permeability evolution curves of bioclogging experiments in porous media

不断增大的剪切力易造成生物膜脱落,因此 k/k_0 的间歇性波动更为剧烈频繁。相反,在高流速、小孔径条件下,生物膜附着于柱子表面生长,结构更为致密,难以发生剪切脱落,团簇间几乎不发生凝聚,堵塞更为稳定,堵塞效果也更为显著。

为量化不同实验条件下渗透率的间歇性波动特征,采用实验后期(32~48 h) k/k_0 的标准差表征孔隙介质渗透率的波动程度,如图7所示。在低流速、大孔径条件下, k/k_0 的标准差达到10%~30%,表明该条件下优势通道频繁地打开与闭合导致渗透性呈现显著波动。与之形成鲜明对比的是,在高流速、小孔径条件下, k/k_0 的标准差显著降低至接近0,表明生物膜结构具有较高稳定性,这与堵塞模式Ⅱ的特征一致,进一步验证了该模式下堵塞的稳定性。

需要指出的是,实验采用较小尺寸的二维孔隙结构,且孔隙大小均一、排列规则,在相对可控的条件下研究孔径与流速对微生物堵塞的影响,能揭示基本堵塞机制,但无法完全反映真实三维孔隙介质中的微生物堵塞过程。真实的三维孔隙介质通常具有不规则的孔隙形状与复杂的连通性,这些因素

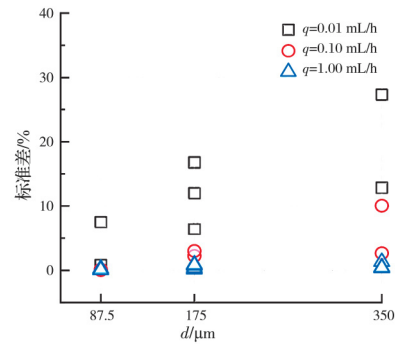


图7 堵塞后期渗透率间歇性波动分析
Fig. 7 Intermittent permeability fluctuations in late-stage clogging

均会对生物膜生长及优势通道形成产生重要影响。此外,实验仅考虑单一菌株形成的生物膜,而实际环境中生物膜通常由多种微生物组成,不同微生物间的相互作用未在研究中充分探讨。因此,未来研究可在更复杂的孔隙结构中开展,并综合考虑多种微生物相互作用以及环境因素的综合影响。

3 结论

通过表征孔隙介质中生物膜的团簇行为和介质渗透率的演变特征发现,流速与孔径通过影响剪切速率和营养物质交换速率控制生物膜的形态和最终堵塞效率,不同的堵塞机制取决于流速和孔径。

1)圆柱颗粒表面生物膜的形态主要受流速控制。堵塞初期,低流速条件下生物膜在孔隙间呈斑块状分布,其生长位置主要由微生物初始附着位点决定;高流速条件下生物膜在孔隙间呈丝状体形态。堵塞后期,流速较低时,会形成明显的优势通道;流速较高时,颗粒表面会形成一层致密生物膜,不易脱落。

2)通过分析生物膜团簇的时空演变特征发现:流速越大,孔隙内营养物质通量越高,越能促进团簇生长;孔径越小,孔隙介质堵塞发展越快;同时,较高的剪切应力会促使形成更为致密、且沿流动方向高度聚集的生物膜,进而有助于生物堵塞的发展。

3)在实验条件下,微生物堵塞模式可分为有优势通道(堵塞模式Ⅰ)和无优势通道(堵塞模式Ⅱ)。堵塞模式Ⅰ发生于较低流速、较大孔径条件下,流体主要沿优势通道集中流动,其余区域流速较低,甚至形成死端。堵塞模式Ⅱ发生于较高流速、较小孔径条件下,流场分布相对均匀,不存在高速流动集中区域。

4)发生微生物堵塞的孔隙介质渗透率均呈衰减趋势,但其衰减具有一定极限,通常降低2~3个

数量级。在较小孔径、较大流速条件下,孔隙介质的生物堵塞更为稳定,渗透率基本无间歇性波动,堵塞效应也更为显著;实验结束时 k/k_0 下降至0.0038。

参考文献

- [1] Flemming H C, Wingender J, Szewzyk U, et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life[J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(9): 563-575.
- [2] Sauer K, Stoodley P, Goeres D M, et al. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation[J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(10): 608-620.
- [3] Roberson E B, Firestone M K. Relationship between desiccation and exopolysaccharide production in a soil *Pseudomonas* sp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(4): 1284-1291.
- [4] Or D, Smets B F, Wraith J M, et al. Physical constraints affecting bacterial habitats and activity in unsaturated porous media: a review[J]. Advances in Water Resources, 2007, 30(6/7): 1505-1527.
- [5] Molina-Santiago C, Pearson J R, Navarro Y, et al. The extracellular matrix protects *Bacillus subtilis* colonies from *Pseudomonas* invasion and modulates plant co-colonization[J]. Nature Communications, 2019, 10: 1919.
- [6] Flemming H C, Wuertz S. Bacteria and archaea on earth and their abundance in biofilms[J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(4): 247-260.
- [7] Ciofu O, Moser C, Jensen P Ø, et al. Tolerance and resistance of microbial biofilms[J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(10): 621-635.
- [8] Masters E A, Ricciardi B F, de Mesy Bentley K L, et al. Skeletal infections: microbial pathogenesis, immunity and clinical management[J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(7): 385-400.
- [9] Wang C L, Su Y J, Shatil Shahriar S M, et al. Emerging strategies for treating medical device and wound-associated biofilm infections[J]. Microbial Biotechnology, 2024, 17(10): e70035.
- [10] Baveye P, et al. Environmental impact and mechanisms of the biological clogging of saturated soils and aquifer materials[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 1998, 28(2): 123-191.
- [11] Waybrant K R, Blowes D W, Ptacek C J. Selection of reactive mixtures for use in permeable reactive walls for treatment of mine drainage[J]. Environmental Science & Technology, 1998, 32(13): 1972-1979.
- [12] Balkwill D, Chen J S, DeFlaun M, et al. Breakthroughs in field-scale bacterial transport[J]. EOS, Transactions American Geophysical Union, 2001, 82(38): 417-425.
- [13] Kao C M, Chen S C, Liu J K. Development of a biobarrier for the remediation of PCE-contaminated aquifer[J]. Chemosphere, 2001, 43(8): 1071-1078.
- [14] Cunningham A B, Sharp R R, Hiebert R, et al. Subsurface biofilm barriers for the containment and remediation of contaminated groundwater[J]. Bioremediation Journal, 2003, 7(3/4): 151-164.
- [15] 廖怀玉, 孙丽, 李济斌, 等. 菌-藻共生生物膜污水处理研究进展[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2021, 43(4): 141-153.
- Liao H Y, Sun L, Li J B, et al. Bacterial-algal symbiosis biofilm for wastewater treatment: a review[J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2021, 43(4): 141-153. (in Chinese)
- [16] Sormunen K, Ettala M, Rintala J. Internal leachate quality in a municipal solid waste landfill: vertical, horizontal and temporal variation and impacts of leachate recirculation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 160(2/3): 601-607.
- [17] 刘汉龙. 生物建造体系与展望[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2024, 46(4): 1-22.
- Liu H L. Biogenic construction: system and perspectives [J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2024, 46(4): 1-22. (in Chinese)
- [18] 刘汉龙, 肖鹏, 肖杨, 等. 微生物岩土技术及其应用研究新进展[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2019, 41(1): 1-14.
- Liu H L, Xiao P, Xiao Y, et al. State-of-the-art review of biogeotechnology and its engineering applications[J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2019, 41(1): 1-14. (in Chinese)
- [19] 刘汉龙, 马国梁, 赵常, 等. 微生物加固钙质砂的宏观力学机理[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2020, 42(4): 205-206.
- Liu H L, Ma G L, Zhao C, et al. Macro- and micro-mechanical regime of biotreated calcareous sand[J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2020, 42(4): 205-206. (in Chinese)
- [20] 冉进瑜, 王雪亮, 汪杨, 等. 微生物加固路基强度及稳定性[J]. 土木建筑与环境工程, 2018, 40(4): 128-134.
- Ran J Y, Wang X L, Wang Y, et al. Strength and stability of embankment foundation strengthened by MICP[J]. Journal of Civil, Architectural & Environmental Engineering, 2018, 40(4): 128-134. (in Chinese)
- [21] 朱凌云, 张勤. 膜生物反应器技术探讨[J]. 重庆建筑大学学报, 2004, 26(1): 85-88.
- Zhu L Y, Zhang Q. Membrane bioreactor for treatment of wastewater[J]. Journal of Chongqing Architecture University, 2004, 26(1): 85-88. (in Chinese)
- [22] 张晗, 公维佳, 白朗明, 等. 膜曝气提升菌藻生物膜反应器效能及稳定性[J]. 土木与环境工程学报(中英文),

- 2021, 43(6): 145-154.
- Zhang H, Gong W J, Bai L M, et al. Membrane aeration enhances the performance and stability of the bacterial-algae biofilm reactor[J]. *Journal of Civil and Environmental Engineering*, 2021, 43(6): 145-154. (in Chinese)
- [23] 郭其艺, 成亮, 黎启明, 等. 沸石颗粒填料固定床生物膜曝气污水处理工艺[J]. *土木与环境工程学报(中英文)*, 2023, 45(4): 192-200.
- Guo Q Y, Cheng L, Li Q M, et al. Non-aeration wastewater treatment process using zeolite particle based fixed-bed biofilm bioreactor[J]. *Journal of Civil and Environmental Engineering*, 2023, 45(4): 192-200. (in Chinese)
- [24] Macleod F A, Lappin-Scott H M, Costerton J W. Plugging of a model rock system by using starved bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(6): 1365-1372.
- [25] Yin J, Wei X X, Hu F T, et al. Alternative stable microbiome state triggered by the introduction of functional microbes in oil reservoirs drives sustainable microbial enhanced oil recovery[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 475: 146073.
- [26] Joseph A M, Rathinam N K, Ganeshan S, et al. Biofilm engineering approaches for improving the performance of microbial fuel cells and bioelectrochemical systems[J]. *Frontiers in Energy Research*, 2018, 6: article 63.
- [27] Cao Y Y, Zhang C Q, Liu X, et al. The biofilm characteristics and enhanced performance of a marine microbial-electrolysis-cell-based biosensor under positive anodic potential[J]. *Journal of Civil and Environmental Engineering*, 2024, 46(6): 221-230.
- [28] 康峰, 伍艳辉, 李佟茗. 生物燃料电池研究进展[J]. *电源技术*, 2004, 28(11): 723-727.
- Kang F, Wu Y H, Li T M. Research progress in biofuel cell[J]. *Chinese Journal of Power Sources*, 2004, 28(11): 723-727. (in Chinese)
- [29] Geisel S, Secchi E, Vermant J. The role of surface adhesion on the macroscopic wrinkling of biofilms[J]. *eLife*, 2022, 11: e76027.
- [30] Bravo P, Lung Ng S, Macgillivray K A, et al. Vertical growth dynamics of biofilms[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, 120(11): e2214211120.
- [31] Drescher K, Shen Y, Bassler B L, et al. Biofilm streamers cause catastrophic disruption of flow with consequences for environmental and medical systems[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(11): 4345-4350.
- [32] Rusconi R, Lecuyer S, Guglielmini L, et al. Laminar flow around corners triggers the formation of biofilm streamers[J]. *Journal of the Royal Society, Interface*, 2010, 7(50): 1293-1299.
- [33] Savorana G, Słomka J, Stocker R, et al. A microfluidic platform for characterizing the structure and rheology of biofilm streamers[J]. *Soft Matter*, 2022, 18(20): 3878-3890.
- [34] Scheidweiler D, Peter H, Pramateftaki P, et al. Unraveling the biophysical underpinnings to the success of multispecies biofilms in porous environments[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(7): 1700-1710.
- [35] Rupp C J, Fux C A, Stoodley P. Viscoelasticity of *Staphylococcus aureus* biofilms in response to fluid shear allows resistance to detachment and facilitates rolling migration[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(4): 2175-2178.
- [36] Peterson B W, He Y, Ren Y J, et al. Viscoelasticity of biofilms and their recalcitrance to mechanical and chemical challenges[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2015, 39(2): 234-245.
- [37] Morales V L, Parlange J Y, Steenhuis T S. Are preferential flow paths perpetuated by microbial activity in the soil matrix? A review[J]. *Journal of Hydrology*, 2010, 393(1/2): 29-36.
- [38] Seifert D, Engesgaard P. Sand box experiments with bioclogging of porous media: hydraulic conductivity reductions[J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2012, 136: 1-9.
- [39] Seki K, Thullner M, Hanada J, et al. Moderate bioclogging leading to preferential flow paths in biobarriers[J]. *Groundwater Monitoring & Remediation*, 2006, 26(3): 68-76.
- [40] Davey M E, O'toole G A. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(4): 847-867.
- [41] Kim J W, Choi H, Pachepsky Y A. Biofilm morphology as related to the porous media clogging[J]. *Water Research*, 2010, 44(4): 1193-1201.
- [42] Rossy T, Nadell C D, Persat A. Cellular advective-diffusion drives the emergence of bacterial surface colonization patterns and heterogeneity[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 2471.
- [43] Secchi E, Vitale A, Miño G L, et al. The effect of flow on swimming bacteria controls the initial colonization of curved surfaces[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 2851.
- [44] Okubo T, Matsumoto J. Effect of infiltration rate on biological clogging and water quality changes during artificial recharge[J]. *Water Resources Research*, 1979, 15(6): 1536-1542.
- [45] Wu J Q, Gui S X, Stahl P, et al. Experimental study on the reduction of soil hydraulic conductivity by enhanced biomass growth[J]. *Soil Science*, 1997, 162

- (10): 741-748.
- [46] 王茜丹, 路莹, 杨悦锁, 等. 微生物堵塞过程中生物膜生长特征对多孔介质渗流特征影响[J]. 中国环境科学, 2022, 42(6): 2771-2778.
- Wang Q D, Lu Y, Yang Y S, et al. A study of microbial clogging on the variation of seepage characteristics with biofilm growth in porous medium[J]. China Environmental Science, 2022, 42(6): 2771-2778. (in Chinese)
- [47] 章艳红, 叶淑君, 吴吉春, 等. 孔隙介质中生物膜空间分布及其对渗透性影响研究[J]. 环境科学学报, 2012, 32(5): 1072-1080.
- Zhang Y H, Ye S J, Wu J C, et al. A study of distribution of biofilm in porous media and its effect on permeability[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, 32(5): 1072-1080. (in Chinese)
- [48] Kurz D L, Secchi E, Carrillo F J, et al. Competition between growth and shear stress drives intermittency in preferential flow paths in porous medium biofilms[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(30): e2122202119.
- [49] Stewart T L, Scott Fogler H. Pore-scale investigation of biomass plug development and propagation in porous media[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2002, 77(5): 577-588.
- [50] Stoodley P, Dodds I, de Beer D, et al. Flowing biofilms as a transport mechanism for biomass through porous media under laminar and turbulent conditions in a laboratory reactor system[J]. Biofouling, 2005, 21(3/4): 161-168.
- [51] Hu R, Wan J M, Kim Y, et al. Wettability impact on supercritical CO₂ capillary trapping: pore-scale visualization and quantification[J]. Water Resources Research, 2017, 53(8): 6377-6394.
- [52] Hu R, Wan J M, Yang Z B, et al. Wettability and flow rate impacts on immiscible displacement: a theoretical model[J]. Geophysical Research Letters, 2018, 45(7): 3077-3086.
- [53] Lan T, Hu R, Yang Z B, et al. Transitions of fluid invasion patterns in porous media[J]. Geophysical Research Letters, 2020, 47(20): e2020GL089682.
- [54] Klotz M, Kretschmer M, Goetz A, et al. Importance of the biofilm matrix for the erosion stability of *Bacillus subtilis* NCIB 3610 biofilms[J]. RSC Advances, 2019, 9(20): 11521-11529.
- [55] Falcón García C, Kretschmer M, Lozano-Andrade C N, et al. Metal ions weaken the hydrophobicity and antibiotic resistance of *Bacillus subtilis* NCIB 3610 biofilms [J]. NPJ Biofilms and Microbiomes, 2020, 6: article number 1.
- [56] Kalamara M, Abbott J C, Macphee C E, et al. Biofilm hydrophobicity in environmental isolates of *Bacillus subtilis*[J]. Microbiology, 2021, 167(9): 34486975.
- [57] Valiei A, Kumar A, Mukherjee P P, et al. A web of streamers: Biofilm formation in a porous microfluidic device[J]. Lab on a Chip, 2012, 12(24): 5133-5137.
- [58] Paul E, Ochoa J C, Pechaud Y, et al. Effect of shear stress and growth conditions on detachment and physical properties of biofilms[J]. Water Research, 2012, 46(17): 5499-5508.
- [59] Wei G J, Yang J Q. Impacts of hydrodynamic conditions and microscale surface roughness on the critical shear stress to develop and thickness of early-stage *Pseudomonas putida* biofilms[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2023, 120(7): 1797-1808.
- [60] Kazemifar F, Blois G, Kyritsis D C, et al. A methodology for velocity field measurement in multiphase high-pressure flow of CO₂ and water in micromodels[J]. Water Resources Research, 2015, 51(4): 3017-3029.
- [61] Guo W, Hu R, Zhou C X, et al. Dissolution regimes of a horizontal channel in a gravity field[J]. Physical Review Fluids, 2023, 8(12): 123902.

(编辑 朱备)