1. **立项依据**
2. **项目的研究意义及科学依据**——（王金泰）

由于沼液浊度可达150~300NTU，导致光传输困难，加之悬浮状态下微藻细胞内色素对光的吸收、微藻细胞对光的散射以及微藻细胞间的相互遮挡，导致微藻悬浮液沿光传输方向光强呈指数型衰减12，内部光强不足，微藻光合生长受，氨氮去除能力下降，因此必须寻找合理的技术克服光传输难题。微藻生物膜培养可实现悬浮态藻细胞“水生”到“陆生”的转变。

基于此，本项目提出微藻处理沼液及资源化利用新方法，采用微藻生物膜高效净化高浊度、高氨氮沼液，随后将积累的高密度藻细胞直接用于水热转化制取功能性碳材料等高附加值产物。

* **第一大部分：背景引出——本项目的大方向（微藻净化沼液、资源化利用）**

**参考:**（**微藻技术具有既固定CO2、同时又可获取高附加值产物（如叶黄素）、并实现能源化再利用（如生物燃料）的突出优势，因此，利用微藻光合固定CO2并实现其高值化和能源化转化利用的技术具有重要的社会和经济效益，其应用前景十分广阔**。**同时要总结出本项目的整体技术路线（+技术示意图？）**

* **以上述提及的本项目大方向（整体的技术路线）为基础**

**Eg: 分点描述——依次引出每点所涉及到的关键科学问题**

1. **国内外研究现状分析——是为了引出每一关键问题下的研究内容**

**（1）藻种筛选驯化现状和调控机理研究**——（吴帅、宋爱）

（集中在筛选方法和在保证高速生长的同时，微藻内蛋白和碳水的合成调控）微藻的筛选技术是主要用于鉴定藻类群体以及选择具有所需生物功能的最佳藻类的方法[1]。筛选出在养殖废水中生长能力强的微藻是实现微藻净化养殖废水的前提。驯化指的是通过改变环境迫使微藻调整其生理行为，使微藻在原本不适应的环境条件下保持生长[2]。微藻对环境变化具有较强的适应能力，暴露于不同的有毒化合物中它们能够适应生长且耐受范围较宽。

微藻处理沼液中，对藻种驯化主要目的是使微藻能够在高氨氮沼液环境中生长，因为高氨氮情况下，微藻的生长会受到游离氨（NH3）的抑制，NH3可以直接穿过细胞膜，对微藻的光合作用有毒害作用[3]。沼液中的氮素主要是以无机氮（包括氨氮、硝氮和亚硝氮）和有机氮（包括蛋白质、尿素和氨基酸等）的形式存在[4]。微藻可以通过同化作用吸收废水里的无机氮，将其转化为蛋白质、酶、核酸、遗传物质等[5]。微藻在吸收氨氮时不涉及氧化还原反应，需要的能量相较于硝氮和亚硝氮来说比较少，而且硝氮和亚硝氮需要通过硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶转化成氨氮后才能被微藻吸收;因此，这3种无机氮中氨氮的利用优先级最高[6]。除此之外，沼液中的氨氮还可通过氨挥发的形式被去除，这是因为沼液中氨氮浓度特别高，而且废水的pH值会随着微藻生物量的增加而逐渐升高，氨氮中的NH4+ 会以氨气的形式逃逸[7]。

磷是沼液中主要的污染物，也是藻类能量代谢的关键因素之一，它广泛存在于核酸、脂类、蛋白质和碳水化合物代谢的中间产物中。无机磷可以被微藻吸收至细胞内，通过多种磷酸化作用(底物水平磷酸化、氧化磷酸化和光合磷酸化)参与能量合成过程，从而达到从废水中去除的目的。微藻在上述过程中优先利用H2PO-4和HPO2-4两种形式的无机磷，某些藻种也可利用有机脂中的磷进行生长。微藻吸收利用并非废水中磷素的唯一去除途径，微藻生长导致的废水pH值和溶解氧升高亦可引发磷酸盐沉淀[8]。

沼液中，微藻利用的碳源有有机碳和无机碳，无机碳包括HCO3-、CO32-、CO2和H2CO3等，而能被微藻直接利用的只有CO2和HCO3-，有少部分微藻仅仅只能利用CO2[9]。由于CO2的非极性性质，CO2可以扩散到微藻细胞质膜，利用还原剂NADPH和ATP水解产生的能量，通过卡尔文循环将无机碳转化为有机碳。而HCO3 -需要主动转运机制先转化成CO2，再通过碳酸酐酶的酶作用，促进无机碳的固定。其合成反应式为：，。微藻利用有机碳时，可以通过光异养、化能异养和光激活异养等形式利用废水中的有机污染物作为碳源和能源进行生长。沼液中碳源相较于氮源来说比较少，一般都需要添加部分有机碳或者无机碳。无机碳一般添加CO2或者NaHCO3，CO2的最佳浓度为1%~6%，而且CO2的供应会减少废水中的碳质物质的利用，COD减少的速率与所提供的CO2浓度成反比，间歇性地向微藻供应CO2可以减缓这种影响，促进自养生长，异养消耗碳质物质。添加的常用的机碳源有葡萄糖，甘油，乙酸盐或乙醇等。对于复杂的有机碳化合物，可以通过异养微生物（细菌或者真菌）分解，以便被微藻所利用[10]。在厌氧发酵过程中，会产生大量可溶性代谢物，其可以作为碳源供给微藻生长。可溶性代谢物成分繁多复杂，如VFA、酸盐、醇等，其中乙酸盐是厌氧发酵的主要副产物，乙酸盐是微藻中脂质合成的来源[11]，但大多数微藻对乙酸盐的耐受性在1-10g/L，高于对丁酸盐的耐受性（0.1-1.0g/L）[12]。0.5g/L的丁酸会抑制微藻的生长，可能是由于未分解形式的丁酸盐（丁酸）被同化后，细胞质被酸化的结果[13]，并且乙酸盐的添加对微藻培养中碳水化合物积累的影响尚不清晰[11]。

国内外也进行了许多筛选理想藻类的试验研究。程海翔[14]从养猪场废水处理池内筛选出一株栅藻(Desmodesmussp.CHX1),并对其净化养猪废水的可行性进行探讨,认为该栅藻具备净化养猪废水的潜力。邵瑜[15]的研究表明,此栅藻在生物量积累和氮磷去除效果方面均优于小球藻(ChlorellavulgarisFACHB1068)和葡萄藻(BotryococcusbrauniFACHB765)。 张红兵[16]等人通过平板划线法从河北的部分河流中筛选到5株小球藻,经奶牛养殖废水沼液驯化后得到优势藻株，该藻在奶牛养殖废水沼液中的适应能力很强，对沼液中总氮、总磷和COD的去除能力也很强。

同时沼液中存在一些病原体，如spore-forming bacteria孢子化细菌[17, 18]，受反应器性能影响，微生物种类和数量不是恒定的，微藻生长可能会受到影响[19]。细菌与微藻存在着一定的竞争关系，阻碍微藻的生长以及对重金属的吸附[20]。沼液中含有大量金属元素，如钠、钾、钙、镁、铁、锰、锌、铜等，其可以满足微藻生长所需的营养元素[19]。重金属对微藻的作用分两方面，一方面，某些重金属是藻类生长必须的微量元素，如铁、铂等，但也需要控制在一定浓度，另一方面重金属会造成阻碍细胞分裂，抑制光合作用、降低酶的活性等影响[21]。如沼液中铜的含量0~600 ppm[19, 22, 23]，铜对小球藻的EC50值高于镉，同时发现铜对球菌和小球藻的抑制浓度分别为0.1 ppm、0.2 ppm[24]。Hilary等[25]将小球藻在铜离子浓度为2g/L的培养基中培养100d进行驯化，将驯化后的小球藻在低浓度的铜离子的培养基培养超过72h。研究结果表明驯化后的小球藻在低浓度的铜离子的培养基中生长速率与正常培养基培养的微藻相比基本没有受到影响，不再受低浓度铜的抑制。Wang等[26]对月芽藻、微囊藻、鱼腥藻、硅藻四种微藻进行重金属锌离子的耐受性驯化试验。试验结果表明:四种微藻经驯化后对重金属锌离子的耐受性增强。同一重金属在不同环境条件下的毒性作用也不同，因此需要调整微藻的最佳生长条件。微藻细胞官能团吸附金属离子的能力可能在很大程度上决定了微藻对重金属的去除率[27]，因为微藻对对不同重金属的吸附能力不同，重金属的残留仍存在一定的问题[28]。

同时针对抗生素这种新型污染物，在厌氧发酵过程中去除率在27~74%[29]。抗生素可能会通过抑制化学物质（叶绿素a和色素）的合成以及酶（氧化氢酶和超氧化物歧化酶）的活性来影响微藻生长[30, 31]。通常半数最大有效浓度EC50来量化抗生素对微藻的抑制作用，在沼液中抗生素浓度远低于EC50值­，因此用微藻处理抗生素存在可行性[32]。但多种抗生素联合抑制作用可能比单一抗生素更为严重，如红霉素、恩诺沙星和红霉素-恩诺沙星混合物相对于寻常小球藻的96 h-EC50值分别为85.7、124.5和39.9 μg/ L[33]。通过对微藻去除抗生素的机理研究，选择合适的藻种和调整微藻的生长条件能够有效解决沼液中残余抗生素问题[32]。

**（2）微藻沼液处理光生物反应器内传递与转化调控**

**（i）沼液环境下微藻生物膜成膜机理及生长特性**

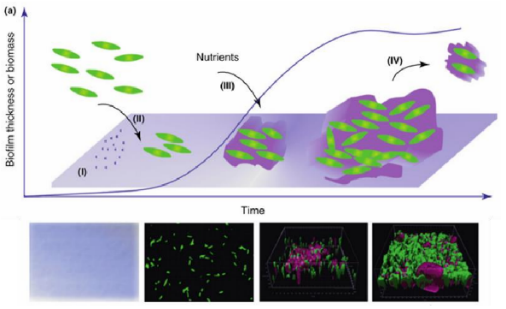
生物膜的形成过程包括了一系列复杂的生物、物理和化学过程，这些过程不但受到载体特性、系统结构形式等影响，也受到营养浓度，温度，水力条件，pH 值等培养条件影响，这些因素之间相互作用，形成一套复杂的生物膜生长动力学系统[1]。细胞在载体表面粘附后在特定的环境下增殖生长，发展成具有一定组织和性能完备的生物膜。生物膜的形成一般要经过四个阶段，如图2.1所示：首先悬浮的细胞在自身重力的作用下借助鞭毛的运动、流体动力或布朗运动到达载体表面；之后，通过鞭毛、纤毛等细胞器和细胞膜的外层膜蛋白，在静电力、范德华力、表面张力和粘附力的作用下依附载体表面上[2]，该过程为初始的不可逆附着过程；附着到载体表面的细胞在繁殖过程中通过分泌大量细胞外聚合物（EPS），在载体表面使分散的细胞连结为成片的群落，使其粘附于载体表面的能力变强，即为不可逆附着，该过程是生物膜形成的基础；随后，细胞通过生长和繁殖，蔓延形成具有一定复杂结构的成熟生物膜[3]。

图2.1 生物膜成膜及发展过程[4]

影响生物膜成膜的因素很多，在生物膜各个发展阶段，其主要影响因素也不同。1）在细胞运动到载体附近阶段：微生物种类、流动状态及外加环境条件是其主要影响因素；2）在细胞初始附着阶段：微生物表面的物化性质与载体的表面特性和水力剪切力成为主要的影响因素；3）在生物膜发展成熟阶段，培养条件则成为最主要的影响因素。但这些影响因素并不是独立作用于成膜过程，它们相互影响且相互耦合地对细胞发展形成成熟生物膜的过程产生影响。

①微生物自身特性。Tyler[5]提出，对于不同的微生物物种，其形状、尺寸、物质含量及代谢特性的差别是造成生物膜不同的最基础原因。在成膜过程中，EPS作为粘合、加固物质，在微藻附着和成膜过程中扮演着重要角色，既能提高生物膜微生物细胞对外部环境的抵御能力，又是影响生物膜稳定性的关键因素[6]。Y. Shen等[7]发现，由于不同物种分泌 EPS 的能力不同，通过对二形栅藻、斜生栅藻、原始小球藻、普通小球藻、绿球藻、整齐盘形藻分别静止于锥形瓶中，监测其成膜及生长情况发现，绿球藻 EPS 分泌量最多，生物质积累速度最快，且成膜情况最佳。而在生长过程中，Davis[8]等用二次沉淀池的污水培养混合藻种，发现绿藻（毛枝藻、鞘藻、丝藻、栅藻）的生长速度大于蓝绿藻（颤藻、鞘丝藻）和硅藻。由于细菌往往比微藻分泌较多的 EPS，因此研究者们便利用生物方法，将细菌和微藻进行共生培养，从而加速微藻生物膜的形成[9]。然而，由于部分细菌会以微藻为有机物底物将其消化吞食，致使微藻生物质产量较低，因此该方法对共生细菌及微藻的种类选择要求较为严苛[10]。此外，EPS 对生物膜的影响具有两面性，一方面较多的 EPS 会提高生物膜的抗逆性及附着稳定性，但另一方面，由于 EPS 是以包被的形式包裹着微生物细胞形成具有一定结构的生物膜，当 EPS 过多时，则会使生物膜传质阻力增加，反而不利于微生物生长及生物膜的进一步发展。由于沼液中也存在一些细菌，因此沼液环境下的微藻生物膜相比于纯藻生物膜，其EPS含量更多，进而生物膜结构可能更加紧密。但此情况对沼液环境下形成的生物膜所产生的利弊，不仅取决与EPS含量的多少，还取决与沼液中细菌的种类及其代谢物质对微藻细胞生长造成的影响。

② 载体表面特性。载体的表面特性包括：形貌、粗糙度、浸润性、电荷性、生物相容性等。表面粗糙度和形貌变化的增加可减少液体流动时生物膜中微生物细胞所承受的水力剪切力，从而大大减小细胞被冲刷的可能性。朱云龙等[11]通过在线观测实验系统，发现在经打磨的载玻片上，粗糙度越大小球藻在其表面附着的生物量越多。Ozkan等[12]研究提出，在实验开始的前4分钟内，普通小球藻在疏水材料（ITO 表面）表面的附着速率是在亲水表面附着速率的 3 倍左右；实验开始320分钟后，其在疏水表面的附着密度为在亲水表面附着密度的2.7倍。Shen 等[7]研究了微藻在波浪形聚乙烯材料表面的附着效果，发现波浪形斜坡结构可使微藻细胞更容易被低洼的谷地区域捕获并增加细胞初始附着的牢固性，因此在波浪板凹陷处生物膜较厚，最终生物质量可达22.05 g m-2；Ahsan等[13]在 PDMS 表面构建了阵列的柱状凸起，发现生物膜在有柱状凸起的载体表面的生长速率比在平板上提高了40%。由于藻细胞表面通常带负电荷，因此Lou等[14]使用带正电的电极材料作为载体，利用异种电荷互相吸引的原理，加快了微藻的附着速度。因此，针对具有表面疏水特性的基底，进一步进行基底修饰以增加其表面粗糙度及形貌变化程度是强化生物膜成膜的手段之一。

③培养条件。生物膜的培养条件包括：**温度、光照、底物浓度及种类、培养液 pH、碳源浓度**等诸多因素。

1. **温度**对微生物细胞的影响主要在两方面，一方面是影响与温度有关的藻细胞的组成物质的量及性质，特别是蛋白质与脂肪；另一方面是影响与反应有关的温度系数，这个系数反过来又会影响反应活化能的高低。藻细胞主要从这两方面进行包括酶反应、细胞渗透性和细胞组成等代谢的调节[15]。一般来说，微藻生物量的生产效率对温度的依赖因物种而异，大多数微藻的最适生长温度在20 ~ 30°C之间[16]。除此，沼液中存在多种真菌及细菌，大多数真菌和细菌的适宜生长温度分别为22-28℃和25-37℃，所以沼液中微藻与真菌或细菌共培养的温度一般控制在22 ~ 28℃或25 ~ 30℃之间，该温度控制对于污水和沼液的可持续大规模净化及其生态控制具有重要意义[17]。
2. **光**是微藻合成细胞原生质的重要能量来源。充足的光照强度、光周期(明暗循环)是微藻生长的关键参数，对沼液中污染物的去除效率具有显著影响[17]。一般而言，在一定光照度范围内，藻细胞光合作用率随光照强度的增加而增加，且最大光合速率发生在光饱和点；当光强高于光饱和极限时，微藻无法吸收多余能量，导致PSII被破坏或者产生光氧化损伤，进而抑制微藻生长甚至将其杀死，即出现光抑制现象[18,16]。因此，选择适宜的光照强度是培养微藻的必要条件。此外，微藻光合产物的生产需要明暗交替，光能是化学阶段合成ATP（三磷酸腺苷）和NADPH（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸）所必需的能量来源，而暗循环被用来产生微藻生长过程中的必需分子[19,20]。因此，选择一个合适的光周期对微藻生长及其生物质积累具有重要意义。在不同光周期下，微藻生长特性的差异进而会影响沼液出水处营养物的去除效率。研究表明，小球藻生长和沼液养分还原的最佳参数为中等光强350μmol m-2 s-1和14h :10h光暗比周期[21]。但是不同藻种在其最佳生长状态下所需光照条件（光强及光暗循环比）是不同的。因此，针对本项目中拟确定应用于沼液净化的高效藻种所形成的生物膜，需进一步进行光调控，使其对沼液的净化处理处于最高效的状态。
3. **底物浓度及种类**。微生物生长所需要的营养元素有15~20种。其中，氮和磷是微藻生长最重要的营养成分，在微藻叶绿素合成中必不可少，并且磷元素在由ADP生成三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)中起着重要作用[17]。因此，微藻细胞对氮和磷的吸收效率直接影响其光合效率，进而直接影响其对沼液的净化效率。沼液等其他来源的废水中都含有过量的营养成分，其中氮源的种类主要包括无机氮(如铵态氮(NH4+)、硝酸盐(NO3-)、亚硝酸盐(NO2-)等)和有机氮(如尿素、氨基酸)，其中磷元素主要以H2PO4-和HPO42-的形式存在[22]。已有研究发现，相比于NO3-和NO2-，微藻细胞吸收NH4+ 所消耗的能量更少，因此藻细胞优先利用铵离子[23]。在自然环境下，磷是微藻生长过程中所缺乏的元素，一般来说，藻细胞中磷元素含量仅为1%（w/w）[24]。但是根据所处环境不同，藻细胞可以吸收过量的磷酸盐并储存在细胞内。当磷源充足时，藻细胞正常分裂和生长；当磷源缺乏时，细胞则利用储存的磷源维持自身正常的生长分裂。在微藻生物膜法净化沼液过程中，微藻生物膜的生长动力学将直接影响废水中营养物的去除效率。只有当沼液养分及氮磷配比处于合适范围内，TN和TP才能同时被有效去除及排出[17]。研究发现，淡水微藻*Scenedesmus sp.* (strain LX1)在任何N/P比下都能去除几乎100%的磷，但只有在最佳的N/P比下才能有效地去除氮 [25]。因此，在利用微藻处理沼液时，通过调控沼液养分（氮源及磷源）浓度为其提供合适的N/P比具有重要意义。现有研究中，几乎都是探究单一培养微藻在不同氮、磷浓度及氮磷比下生长特性的差异，如Cheng et al.通过实验培养蛋白核小球藻，研究发现其进行生物量积累的最佳NH4-N、TP和N/P比值分别为409 mg L -1、35 mg L -1和8/1[26]。然而，氮磷比对净化沼液的微藻-真菌联合生物膜系统或微藻-细菌联合生物膜系统的影响及该影响对沼液中营养物去除效率的影响尚不清楚，因此有待进一步的深入研究。
4. **培养液pH**。其对微生物成膜的影响主要作用在三方面：第一方面，影响微生物细胞膜的流动性、膜上蛋白质特性和表面电荷性等；第二方面，影响培养液中的电离平衡和水解平衡，从而影响微生物生长环境中各离子的浓度；第三方面，影响固体基质表面的物理及化学性质[27]。因此，Sekar[28]等人在研究中发现：培养液pH值的变化会使微藻的附着性能发生一定的改变，从而影响其成膜情况（当pH值从9依次降低至6时，双头菱形藻在玻璃表面的附着成膜效果依次降低）。除了影响微生物成膜的初期阶段，过高或过低的培养液pH值都会抑制微藻生长及生物膜的后期发展。一般而言，淡水真核微藻如*C. vulgaris*和*Microspora sp.*的最适pH值范围为5~7，蓝藻的最适pH值范围为7~9 [19]。为高效净化沼液，使微藻及其共生体具有高效的生长效率是一关键。然而，不同来源的沼液pH值不同，并且沼液中存在的异养细菌及沼液中所含有机碳源使微藻进行的异养生长都会使沼液pH值在其被净化的过程中发生变化。故而，优化沼液pH进一步探究不同pH下微生物膜的生长及营养物的去除特性对实现沼液高效净化至关重要。
5. **碳源浓度**。碳是微生物细胞中最主要的元素之一，约占细胞质量50%左右[29]，故其浓度会显著影响微藻的生长和总脂质生产力。沼液中的碳源主要分为有机碳源和无机碳源。其中微藻、真菌或细菌等微生物可以利用有机碳源进行异养生长，同时微藻还可利用无机碳源进行光合自养，以此达到共同吸收去除沼液中的营养物质。有研究表明，溶解无机碳(DIC)以CO2、HCO3-及CO3-2的形式存在，各种形式所占比例取决于溶液pH值和温度。相对于依靠主动运输的HCO3-及CO3-2，微藻优先通过被动扩散吸收CO2[30]。因此，在微藻生物膜法净化沼液过程中，沼液中CO2浓度将显著影响其净化效率。然而，在高pH时，废水中的DIC大多以HCO3-和CO3-2的形式存在，有效CO2的含量并不显著[30]。除此，C/N比值对藻类培养中生物量的产生也有显著影响[31]，在较高C/N比下微藻可生产较多的生物量。厌氧发酵废水中的碳氮比低至1.53[32]，而藻类生长的最佳碳氮比为4~8[33]。因此，在微藻生物膜沼液净化系统中，为生物膜生长提供一个合适的CO2浓度、pH值及C/N比，以获得最大程度的沼液净化是今后研究中必不可少的。
6. **水利条件**。流速是影响生物膜形成的主要因素之一。已有研究表明，低流速下较弱的水力剪切力使载体表面更易形成微生物群落，并可观察到有单细胞附着于载体表面；而高流速下，载体表面的微生物多呈堆叠状存在，单细胞在载体表面附着的情况很少出现[34]。同时，与低流速下形成的生物膜相比，在高流速下形成的生物膜因膜内水分受水流的挤压作用，其结构更为致密，同时与载体表面的粘附能力也更强[35]。Tijhuis等[36]研究发现，当水力停留时间较高时，固体基质表面很难形成完整的生物膜；同时，在不受基质浓度限值的情况下，生物膜密度还受液相中流体扰动程度的影响。Ngene等[37]实验发现，微生物碰到流动障碍会出现沉积现象，因此在水流方向的上游，微障碍颗粒边缘会附着部分微生物，并逐渐积累成膜，且能对水力剪切力产生更强的抵抗作用。沼液中由于含有多种悬浮及胶体状态的微粒，故具有高浊度特性。因此在生物膜法沼液净化系统中，沼液流速改变，同时又引起主液相内微粒运动状态的变化，必然会对生物膜所受水力剪切力产生显著的影响。由此，通过改变沼液流速可以实现对生物膜生长的控制，进而对沼液净化效率进行调控。然而，目前高浊度沼液的流速变化对净化系统中微生物生物膜形成结构、所受水力剪切力、生长特性及其对营养物去除效率的具体影响尚不清楚。

综上所述，生物膜成膜过程非常复杂，沼液环境下影响生物膜成膜过程的因素非常多。因此，深入研究沼液环境下微藻细胞在固体基质材料上的吸附成膜规律及特性，获得基质材料表面特性、流动特性、沼液理化特性、环境因子对生物膜成膜的影响机制，提出促进微藻成膜生长的原理和方法，同时强化生物膜内底物和产物的传输以提高微藻生物膜沼液净化系统的运行性能，对提高生物膜产量及沼液净化效率尤为重要。

**(ii) 沼液处理微藻生物膜反应器内流动与转化特性**

生物膜是由吸附于固体生长基质上的“微生物群落”和实现这一相互连接的“粘性物质”组成，该粘性物质就是细胞外聚合物(EPS) [38]。上述的各个连接之间不可能完全紧密，故其存在一定的孔隙使得生物膜为一网状多孔结构，从而允许反应器内各物质传输通过，供膜内藻细胞生长利用。

已有研究表明，生物膜结构将直接影响到营养物质、CO2、代谢产物、热能和光能的传递以及生物膜活性厚度，进而影响到微生物细胞的生长及产物合成特性[39]。此外，生物膜生长及产物合成特性的差异反过来又将影响生物膜的结构，进而又影响到沼液净化生物膜反应器系统中营养物的去除效率。

当沼液在反应器内流经生物膜时，沼液中的营养物离子和碳源通过对流和扩散传递从溶液中的主流区通过液膜扩散到生物膜的表面。然后，再通过扩散作用从生物膜表面进入到生物膜内，供膜内微生物细胞吸收利用。Beer等[40]实验观察到生物膜内存在大量的孔洞、空隙及通道，且生物膜底部微孔平均孔径为0.3-0.4μm，而在生物膜顶部位置该值接近1.7-2.7μm；生物膜底层位置孔隙率为 58-67%，而顶部的孔隙率则上升至 84-93%[41]。因此，营养物离子和碳源在生物膜内是沿着非均匀分布的孔道进行传扩散传递的。同时，生物膜代谢产生的代谢产物（O2或 CO2、H2等代谢气体）经过反向扩散，由生物膜孔隙传入液相区，然后经气液相界面解析进入气相区，最后随主流流体排出系统[47]。

通常认为，营养底物在生物膜内的行为主要包括扩散与反应这两个步骤。生物膜内的藻细胞通过同化作用吸收从沼液主流区里流动扩散进来的无机氮（包括氨氮、硝氮和亚硝氮），将其转化为蛋白质、酶、核酸、遗传物质等维持自身的生长代谢，从而实现沼液中氨氮的去除[42,43]。沼液中另一主要污染物磷也是藻类能量代谢的关键因素之一，扩散进入生物膜内的磷会被藻细胞吸收，通过多种磷酸化作用（底物水平磷酸化、氧化磷酸化和光合磷酸化）参与能量合成过程，从而达到从沼液中去除的目的[44]。生物膜内藻细胞的光合生长除了对沼液中氮磷的吸收，还依赖于对沼液中无机碳源的吸收及光传输所提供的能量。

沼液中能被微藻直接利用的无机碳源只有HCO3-和CO2，其中CO2气体可以直接通过扩散进入藻细胞，利用还原剂NADPH和ATP水解产生的能量，参与卡尔文循环将无机碳转化为有机碳；而HCO3 -需要经主动转运机制先转化成CO2，再通过碳酸酐酶的酶作用，才能促进无机碳的固定文献。除此，沼液中的其他有机污染物也可被微藻、细菌等微生物吸收降解用于异养生长。

对于光传输，外部光源发出的光子首先经反应器内沼液主流区，后传入生物膜内，为微生物的生化反应提供能量。由于沼液的高浊度特性，其内所含多种悬浮及胶体状微粒对光的散射作用严重阻碍了光向生物膜内的传输。此外对于传入生物膜内的光子，由于细胞内色素对光的吸收、细胞对光的散射及细胞间的相互遮挡，使得生物膜内沿光传输方向的光强呈指数规律衰减，导致生物膜内细胞受光不均匀，甚至底层生物膜完全处于无光区。与此同时，部分光能被吸收转换为辐射热，再结合微生物的代谢热，进而影响到反应器的温度。

由此可见，用于沼液处理的微藻生物膜反应器内物质流动及传输过程是由反应器、生物膜、微生物细胞构成的多尺度传递和生化转化过程，并且物质和能量的传输与生化反应相互影响、相互耦合。生化反应的速率受到底物、光传输、热量传递及生物膜自身结构特性的影响；生化反应的产物传递又会影响到反应器中的两相流型、相分布和流动阻力特性，从而影响到底物、热量和光能的传递，上述影响造成生物膜生长特性的变化又会体现于生物膜结构的改变，进而又影响到生化反应的速率。这些因素相互作用，形成一套复杂的生物膜生长动力学系统。

综上所述，构建生物膜结构与环境间的响应关系，并以此为基础深入探究沼液环境下生物膜复杂的生长动力学，为获得沼液处理微藻生物膜反应器内多相多组分传递和生化转化的机理及规律显得至关重要。同时，为高效沼液处理微藻生物膜反应器的设计提供理论依据，进一步研究反应器内生物膜堆叠结构对气液流动、碳氮磷污染物传递、光传递的影响规律；进一步探明多相流动、能质传递和微藻净化沼液污染物之间的耦合关系极为重要。