



废水微藻资源化处理 原理与技术

张亚雷 褚华强 周雪飞 苏鸿洋◎著



科学出版社

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

废水微藻资源化处理 原理与技术

张亚雷 褚华强 周雪飞 苏鸿洋 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书全面系统阐述了废水微藻资源化处理基本原理和关键技术,包括适合不同类型污、废水培养的优势藻种筛选及改良、培养条件的优化、高效微藻光生物反应器的设计和开发、藻分离和回收技术的应用等。同时,展望了废水生物处理和藻类生物质生产耦合技术的应用前景及需要解决的关键问题,希望能对废水净化和能源生产的高度耦合起到抛砖引玉的作用。

本书读者对象为从事废水微藻净化技术研究及具有一定专业知识的环境、能源工作者,如大专院校及科研院所科研工作者及学生,光生物反应器组件开发工程师、新能源技术研发者,应用工程师,管理协会职员,以及渴望于了解新型微藻废水净化及资源化处理技术的关注者。

图书在版编目(CIP)数据

废水微藻资源化处理原理与技术 / 张亚雷等著. —北京: 科学出版社, 2015.2

ISBN 978-7-03-043377-0

I.①废… II.①张… III.①微藻-应用-废水处理 IV.①X703

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第031222号

责任编辑: 杨婵娟 刘海涛 / 责任校对: 刘亚琦

责任印制: 张 倩 / 封面设计: 铭轩堂

编辑部电话: 010-64035853

E-mail: houjunlin@mail.sciencep.com

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015年4月第 一 版 开本: 720×1000 1/16

2015年4月第一次印刷 印张: 15 1/2 插页: 6

字数: 286 000

定价: 88.00元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

传统污水、废水处理过程中常伴随着高耗能及大量 CO_2 的排放，大量可回收利用的有机碳资源及营养物质未得到有效利用，同时产生大量难以处置的污泥。随着石化能源的耗竭及温室效应的日益显著，寻找更为节能并且环境友好的污水、废水处理工艺迫在眉睫。

微藻是一类体积微小、结构简单、生长繁殖迅速的单细胞藻类，因具有生长周期短、环境适应能力强、生物产量高、部分种类含油量高等优点，其成为一种极具潜力的能源生产原料。然而，在进行微藻工业化大规模培养时，其生长所需要的碳、氮、磷及其他微量元素等各种营养物质成本在其总的生产成本中占有相当大的比例。污、废水中的碳、氮、磷等营养元素如能用于培养有价值生物或转化为可直接利用的生物质，则可实现污、废水处理过程中营养元素的“资源化”和“减排”。废水微藻资源化技术可同时实现污、废水净化、营养元素回收及产出具有高利用价值的生物质。

本书系统介绍了废水微藻资源化处理技术已开展的一系列基础工作，包括适合不同类型污、废水培养的优势藻种筛选及改良、培养条件的优化、高效微藻光生物反应器的设计和开发、藻分离和回收技术的应用等。废水微藻资源化技术作为一种新出现的废水资源化处理技术，还需要广大学者对其进行更加深入系统的研究。在本书结尾，作者展望了废水生物处理和藻类生物质生产耦合技术的应用前景及需要解决的关键问题，希望起到抛

砖引玉的作用。

本书是作者在总结课题组近年来的成果的基础上撰写而成的，李金鹏、钟云娜、谭晓波、赵方超和杨黎彬参与了研究和本书的撰写与编辑工作。同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室为本项目研究提供了优良的条件，本书的出版得到了国家科学技术学术著作出版基金（2014E043）、国家自然科学基金（51478324）和上海市优秀学术带头人计划（14XD1403700）的资助，并得到科学出版社杨婵娟女士的大力支持，在此一并表示感谢。

本书已有的研究难免有不当之处，还需要进一步研究。希望本书的出版有助于引起更多学者对废水微藻资源化的关注，并推动其在环境保护及能源等领域的推广和应用。

目 录

前言

第 1 章 概论	001
1.1 污水处理二氧化碳排放现状及亟待解决的问题	001
1.2 污水处理与微藻培养耦合	002
1.3 污水处理过程 CO ₂ 减排产柴油微藻培养体系研究进展	003
1.3.1 藻种及其分离纯化	004
1.3.2 营养条件	008
1.3.3 培养环境	010
1.3.4 营养方式	013
1.3.5 培养方式	014
1.3.6 微藻与菌间的相互作用	015
1.3.7 微藻培养设施及装置	017
第 2 章 适合于处理有机污水的藻种筛选、分离纯化及诱变	024
2.1 材料与方法	025
2.1.1 试验材料与仪器	025
2.1.2 试验方法	028
2.1.3 分析和检测方法	033
2.2 适合于有机污水处理的藻种筛选	039
2.2.1 人工生活污水培养不同微藻生长	039
2.2.2 不同微藻处理人工生活污水污染物	044
2.3 适合于目标微藻快速分离纯化的方法开发	047
2.3.1 适合于小球藻快速分离纯化的固体培养基	047

2.3.2	正交设计优化小球藻培养基	049
2.3.3	MBG 培养基与无机固体培养基培养效果对比	051
2.4	优势小球藻藻株的紫外诱变及筛选	053
2.4.1	紫外线诱变剂量的确定	053
2.4.2	小球藻紫外诱变及诱变后培养情况	055
2.4.3	诱变小球藻株的测定与筛选结果	056
2.5	突变藻株的生理生化特性对比研究	060
2.5.1	突变藻株的培养条件及监测指标	060
2.5.2	扫描电镜观察突变藻株和出发藻株的差异	060
2.5.3	突变藻株叶绿素含量及生长速率分析	062
2.5.4	突变藻株生物量及产脂能力分析	064
2.5.5	突变藻株各成分含量比较分析	067
2.6	突变藻株有机废水处理效率对比研究	070
2.6.1	藻株培养条件及监测指标	070
2.6.2	突变藻株有机碳利用效率分析	070
2.6.3	突变藻株总氮利用效率分析	073
2.6.4	突变藻株总磷利用效率分析	075
2.6.5	突变藻株藻细胞元素分析	077
第 3 章	不同污水用于微藻培养研究	079
3.1	材料与方法	080
3.1.1	试验材料	080
3.1.2	试验方法	081
3.1.3	分析检测方法	087
3.2	小球藻处理不同人工生活污水	089
3.2.1	小球藻处理不同人工生活污水过程中藻浓度的变化	089
3.2.2	小球藻对不同人工生活污水中 COD、 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 的去除	091
3.2.3	小球藻处理人工生活污水时藻代谢产物产生情况	094
3.2.4	小球藻处理生活污水二氧化碳减排等问题讨论	098
3.3	微藻处理尿液的试验	099
3.3.1	不同微藻处理人工尿液的试验	100
3.3.2	人工尿液培养小球藻	104

3.4	污泥提取液培养微藻	109
3.4.1	不同污泥预处理方法对污泥厌氧发酵的影响	109
3.4.2	不同预处理污泥提取液培养小球藻	112
3.5	豆制品废水培养微藻	114
3.5.1	豆制品废水间歇混养和流加培养小球藻	115
3.5.2	豆制品废水用于小球藻异养培养	121
3.5.3	讨论	134
第 4 章	细菌污染对污水培养小球藻的影响	140
4.1	材料与方法	141
4.1.1	试验材料	141
4.1.2	试验设计	142
4.1.3	分析方法	145
4.2	无菌小球藻及带菌小球藻异养培养的对比研究	146
4.2.1	污染细菌对小球藻生物量的影响	146
4.2.2	污染细菌对小球藻脂肪含量的影响	147
4.2.3	污染细菌对小球藻处理效率的影响	148
4.3	三株藻际细菌对小球藻生长代谢及污染物处理的影响	153
4.3.1	三株藻际细菌对小球藻生长及脂含量的影响	154
4.3.2	三株藻际细菌对小球藻处理效率的影响	157
4.4	讨论	165
第 5 章	污水培养微藻光生物反应器研究	170
5.1	材料与方法	172
5.2	小球藻生长及有机底物降解本征动力学模型	174
5.2.1	小球藻自养生长动力学模型	174
5.2.2	小球藻异养生长动力学模型	175
5.2.3	小球藻混养生长动力学模型及有机底物降解动力学模型	177
5.2.4	讨论	180
5.3	光生物反应器流体力学特性的 CFD 模拟	181
5.3.1	光生物反应器结构和原理	182
5.3.2	计算流体动力学简介	183

5.3.3	数值模拟基础研究模型	184
5.3.4	二维瞬态两相流模型的建立	185
5.3.5	光生物反应器流场模拟结果与讨论	189
5.3.6	讨论	195
5.4	光生物反应器内流场与小球藻生化反应耦合 CFD 模型	195
5.4.1	光生物反应器中小球藻生长及有机底物降解试验研究	196
5.4.2	流场-生化反应耦合模型的建立	198
5.4.3	模拟结果与试验验证	201
5.4.4	讨论	203
第 6 章	废水微藻资源化技术应用展望	205
	参考文献	207
附录 A	三株细菌的鉴定结果	222
附录 B	本书涉及的自定义函数 (UDF) 程序	225
附录 C	文中出现的缩写、符号和单位	233
	彩图	

第 1 章

概 论

1.1 污水处理二氧化碳排放现状及亟待解决的问题

近十几年来，众多的地球环境问题中，最令人瞩目的当属全球变暖问题。二氧化碳（CO₂）是对气候变化影响最大的温室气体，它所产生的增温效应占所有温室气体总增温效应的 63%，在大气中的存留期最长可达 200 年。大气中 CO₂ 的浓度已从工业化前的 270ppm^① 提高到目前的 380ppm，CO₂ 减排成了全球关注的焦点问题，国内外各行各业都在积极探索 CO₂ 减排新技术和新途径。

污水处理过程中通常伴随着高耗能及大量的 CO₂ 排放，如何实现水污染控制过程中节能及 CO₂ 减量排放是目前亟待解决的问题。一般而言，城市生活污水采用生物法进行水质净化处理，该过程主要利用细菌等微生物将污水中的有机物氧化降解为 CO₂ 排放到大气中。2010 年我国城市污水处理厂污水处理总量达到 0.88 亿 m³/d，处理城市污水所产生的 CO₂ 量约为 0.29kg/(m³·d)，每年 CO₂ 排放量达到 931.5 万 t（相当于 232.9 万辆汽车年排放 CO₂ 的量或 350.7 万 t 左右标准煤燃烧排放 CO₂ 的量）。可见，我国城市生活污水处理厂 CO₂ 排放量巨大，且处于无控制排放状态。因此，研究污水处理过程中如何减少 CO₂ 排放具有重要的现实意义。

不仅如此，我国城市生活污水处理普遍采用常规的活性污泥工艺，即通过消耗大量能源满足污水提升、氧气供给、化学需氧量（COD）生物转化、脱氮除磷、污泥浓缩等需要，以 10 万 t 规模的污水处理厂为例，全年所耗的

^① 1ppm=1μL/L。

电能相当于 4000t 左右标准煤所发电量。传统的污水处理工艺不仅具有高耗能、高 CO_2 排放的特点，还浪费了大量可回收利用的有机碳资源及营养物质，同时产生了大量难以处置的污泥（图 1.1）。 CO_2 减排的要求对传统的污水处理理念提出了挑战，研究节约能耗、合理利用碳资源和营养物质、减少 CO_2 排放的污水处理理论和技术将具有重要的现实意义。

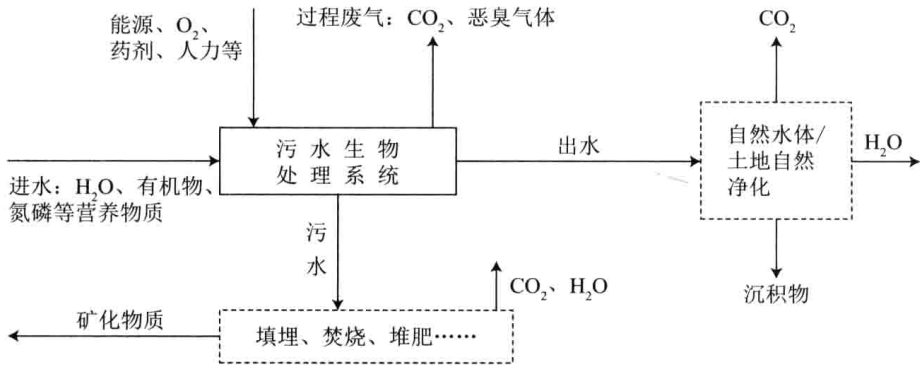


图 1.1 城市生活污水生物处理工艺流程及 CO_2 迁移转化

1.2 污水处理与微藻培养耦合

污水可以看作是能源与资源的载体，其中的碳、氮、磷等营养元素如能用于培养有价值生物或转化为可直接利用的生物物质，则可实现污水处理过程中营养元素的“资源化”和“减排”。污水处理与藻类培养相结合可同时实现污水净化、营养元素回收及产出具有高利用价值的生物物质。市政污水、工业废水、农业及畜牧业废水等富含营养物质的污水可用于藻类培养，藻细胞生长的同时可以去除污水中的污染物质并获得具有价值的微藻生物物质。由于微藻通过光合作用，可将 CO_2 转化成蛋白质、淀粉、维生素及脂质等生物物质实现 CO_2 减排，所以微藻固碳被认为是去除 CO_2 的一种非常安全、有效而经济的方法（Chae et al., 2006; de Morais and Costa, 2007）；部分藻类具有较强的化能异养和混合营养的营养能力（Tuchman, 1996），能直接利用废水中的某些

有机物转化为自身细胞物质，包括糖类、有机酸、氨基酸和某些醇类等有机物；且微藻具有光合速率高、繁殖快、环境适应性强、氮磷处理效率高、可调控及易与其他工程技术集成等优点（Keffer and Kleinheinz, 2002; Chiu et al., 2008）；不仅如此，固碳后产生的大量藻体含有丰富的蛋白质、淀粉及油脂等，具有很好的利用价值（Shen et al., 2011）。鉴于此，如能将污水处理与微藻培养耦合，不但可以固定和净化污水中的有机碳等污染物质，减少碳（污泥、CO₂）排放，还可以获得有价值的藻类生物质，为污水处理工程带来经济效益，可见，污水处理和微藻培养相结合具有很好的发展前景和工业化应用潜力。

1.3 污水处理过程 CO₂ 减排产柴油微藻培养体系研究进展

当前及今后生物柴油的市场需求量极大，利用微藻生产生物柴油在技术上已可实现（Chisti, 2007; Brennan and Owende, 2010），但经济可行性仍存在挑战（Chisti, 2008），这与微藻生产技术、分离技术及后续的资源化利用技术的经济性有关。其中，微藻生产技术可行性是首要的，并对下游技术经济性有很大影响。营养元素和水资源需求是微藻大规模培养面临的主要问题，而污水稳定的水资源和丰富的营养元素可降低大规模微藻培养的成本，但污水处理和微藻培养相结合仍面临一系列的问题，包括：合适藻种的筛选及改良、合适的营养条件和培养环境的选择、培养方式的选择、高效稳定的微藻培养系统的开发等。当前，将微藻培养、微藻生物柴油的生产与污水处理相结合是短期内最有可能商业化应用的（van Harmelen and Oonk, 2006）。因此，如何优化上述因素并通过工艺创新，形成高光合效率、高传质、高固碳率、高细胞产率及低能耗的微藻生产光生物反应器，利用污水营养物质甚至烟道气中的 CO₂ 实现微藻快速生长及高密度培养，降低微藻生产费用及微藻下游处理成本是当前研究工作的重点。

1.3.1 藻种及其分离纯化

1. 藻种

藻种的筛选与其应用场合、培养难易程度及藻的后续利用等因素密切相关。例如，筛选出合适的微藻藻种对于 CO₂ 生物减排效率及生物减排工艺成本竞争力具有显著的影响 (Brennan and Owende, 2010)，其通常要求：光利用率高；CO₂ 转化率高；比生长速率快；耐 pH、温度范围宽；耐高 CO₂ 浓度；对烟道气中微量成分（如 SO_x、NO_x）和重金属具有高耐性；尽可能多的副产物和协同产物。如生物柴油和固体燃料易于收获，可与污水处理相结合等 (Brennan and Owende, 2010; Yoo et al., 2010)。如表 1.1 所示，蓝藻和绿藻具有较大的优势 (Satoh et al., 2001)，其中小球藻 *Chlorella* 和斜生栅藻 *Scenedesmus obliquus* 耐污能力强，并可直接利用污水中的有机物 (Hodaifa et al., 2008; Yang et al., 2008a)。

表 1.1 几种微藻特性

微藻种类	油脂含量占干重比例 (%)	CO ₂ 浓度 (%)	产率 [g/(L·d)]	碳源	
<i>Chlorococum littorale</i>	—	40(Satoh et al., 2001)	—	—	
<i>Chlorella</i> sp.	28~32 (Chisti, 2007)	>60(Hanagata et al., 1992)	4.30(Doucha and Lívanský, 2006; Doucha and Lívanský, 2009), 30(Morita et al., 2002), 24.48(Wu and Shi, 2007)	养猪废水 (Cheunbarn and Peerapornpisal, 2010; Kumar et al., 2010), 木薯酒精发酵废水 (Yang et al., 2008a), 市政污水 (Bhatnagar et al., 2010), 葡萄糖 (Wu and Shi, 2007)	
<i>Chlorella protothecoides</i>	69(Xiong et al., 2010)	—	—	葡萄糖 (Xiong et al., 2010)	
<i>Scenedesmus</i> sp.	12(Yoo et al., 2010)	>60(Hanagata et al., 1992)	0.22(Yoo et al., 2010)	市政污水 (Zhang et al., 2008a)	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	13~61(Mandal and Mallick, 2009)	—	—	橄榄油提炼厂废水 (Hodaifa et al., 2008)	
<i>Botryococcus braunii</i>	25~75(Chisti, 2007; Yoo et al., 2010)	—	0.03(Yoo et al., 2010)	—	
<i>Dunaliella</i>	6~10(陈峰和姜悦, 1999)	—	—	—	
蓝藻	<i>Spirulina</i> sp.	6~7(陈峰和姜悦, 1999)	12, 45.61% 生物固定 (de Morais and Costa, 2007)	0.05~2.70(Carlozzi, 2000; Carlozzi, 2003; Jiménez et al. 2003; Converti et al., 2006)	养猪废水 (Cheunbarn and Peerapornpisal, 2010; Kumar et al., 2010), 尿液 (Yang et al., 2008), 糖蜜 (Andrade and Costa, 2007), 西米淀粉厂废水 (Phang et al., 2000)

续表

微藻种类		油脂含量占干重比例 (%)	CO ₂ 浓度 (%)	产率 [g/(L·d)]	碳源
真眼点藻	<i>Nannochloropsis</i> sp.	22~31(Rodolfi et al., 2009), 31~68(Chisti, 2007)	12, 13.56% 生物固定 (de Morais and Costa, 2007)	0.17~0.21(Rodolfi et al., 2009)	—
硅藻	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20~30(Chisti, 2007)	—	1.52(Cerón et al., 2005)	甘油 (Cerón et al., 2005)

而对于利用微藻生产生物柴油的藻种最好还需具有以下特征：高产油率、在开放池生产系统内为优势藻种、能生产高价值副产物、具有短的生产周期等 (Brennan and Owende, 2010)。目前围绕富油微藻展开的研究主要为绿藻和硅藻，如布朗葡萄藻 *Botryococcus braunii*、小球藻、微拟球藻 *Nannochloropsis* sp.、杜氏盐藻 *Dunaliella primolecta*、三角褐指藻 *Phaeodactylum tricornutum* 等 (Chisti, 2007)。但是，要从自然界筛选出同时满足以上所有要求的藻种是困难的，甚至不可能。其中，以产油微藻的含油率和生长速率之间存在着严重的矛盾为甚，如表 1.1 所示布朗葡萄藻油脂含量高，却生长缓慢；斜生栅藻生长快、固碳能力高，很适合 CO₂ 固定，而油脂含量却不高。因此，筛选出适合在污水中生长并具有较高油脂含量的藻种对于大规模的工程应用是非常必要的。

综上，如何同时提高生物量和细胞含油率以获得更多的油脂产量是急需解决的问题。微藻遗传基因操作也许是一个具有很好前途的选择，但直到现在还没有使用基因工程方法促使微藻大量生产油脂成功的报道，这个领域还处于起步阶段 (León-Bañares et al., 2004)。稳定地大规模培养生长迅速的富油微藻也不一定要通过微藻基因改造来实现 (Rodolfi et al., 2009)，而关于优势藻种的选育、培养工艺及微藻分离技术的创新研究工作可能在短期内更有前景。

2. 藻种分离纯化技术

藻种分离和纯化是指从天然水域的混杂生物群中，用一定方法把所需微藻个体从菌藻共生体系中分离出来，获得纯种培养，即在排除包括细菌在内的一切生物的条件下进行的培养。若利用微藻进行生理生态、生物工程、生命科学、医学药物及环境污染治理等研究，微藻的分离纯化是必须首先要解

决的问题。

目前，具体用于微藻分离纯化的方法有：样品系列稀释分离法、微吸管分离法、水滴分离法和固体培养基分离法。具体介绍如下。

(1) 样品系列稀释分离法：取一定量含有目标微藻的水样，用培养液将其稀释到每一滴含有一两个生物细胞进行培养，然后移入经灭菌的培养液中培养。此法操作简便，设备简单，适合于各种藻的分离，特别是从天然水域中初步分离各种藻，但该法盲目性强，要达到分离纯化所需的时间长。

(2) 微吸管分离法：利用口径极细的微细管，取稀释适度的藻液水样置浅凹载玻片上，在显微镜下用微吸管虹吸吸出要分离的藻体，放入另一浅凹载片上，镜检是否达到纯分离的目的，然后移入经灭菌的培养液中培养。该分离法易找到目标种类，设备也较简单，但操作过程繁琐且困难，分离时间长，操作过程中还有细菌污染的可能。适于分离个体较大或丝状的藻类，如螺旋藻、骨条藻等。

(3) 水滴分离法：用微吸管吸取经稀释适度的藻液，滴到消毒后的载玻片上，显微镜下若一个水滴中只有一个藻细胞（且无其他生物混杂），即用移液管吸取培养液将水滴冲入装有灭菌后的培养液试管中摇匀培养。此法简便易行，适宜于分离在培养液中占优势的藻类，如分离受少量生物污染的微藻。但操作时同样要求细致、认真，因为分离时间长，操作过程中也有细菌污染的可能。

(4) 固体培养基分离法：固体培养基分离法有喷雾法、涂布法和划线法等。该类方法的培养基制备和分离方法，与菌类的平板分离法基本相同，只是培养基配方不同。①稀释平板分离法：依次取5个1.5mL灭菌后离心管，每个加入0.9mL灭菌后培养液，吸取0.1mL待分离的藻液加入第一个离心管中，摇匀后，再吸取0.1mL藻液倒入第一个平板中，用涂布棒涂抹均匀后，正置放好，再从第一个离心管中吸取0.1mL藻液转入第二个离心管中，依此操作继续进行。涂抹好的平板放置一段时间后放入光照培养箱中倒置培养。②平板喷雾法：将稀释藻液装入消毒过的小型喷雾器中，把藻液均匀喷射在培养基平面上，形成薄层水珠，光照下培养。③平板划线法：将接种环伸入藻液中，然后在平板上划线，先平行划线后垂直划线，再在光照培养箱中继续培养。

以上方法一般在培养 2~3 周后,平板上会长出互相隔离的、绿色或者黄色的凸圆形藻类菌落,通过显微镜检查,寻找需要的纯藻群落,然后用消毒后的接种环移植到另一平板培养基培养,也可直接移植到装有经过灭菌的培养液的试管或小三角烧瓶中进行培养。

固体培养基分离法优点是操作简单,适用于绝大部分藻种的分离,且效果最好,很容易得到单一的纯种藻类菌落。缺点是工作量十分大,且培养的时间太长,平均 1~2 个月才有可能得到纯种藻类;中途易受污染,特别是存在霉菌生长时,则影响纯化分离。适合于分离污染杂菌的微藻,特别是绿藻,但不适合分离喜欢群体生活的藻类细胞。

综上所述,每种方法各有优势和适用范围。针对目标微藻生长特性,发明适于快速、简易分离纯化目标微藻的方法十分必要。

3. 藻类生物改良技术

大规模藻类培养与污水处理的成功应用,基本取决于藻类生产力的高低。对天然藻种的改良,是提高藻类生产力的关键途径。对于藻种的改良一般是采用物理的、化学的或生物的手段,以引起细胞核染色体断裂、缺失、碱基置换、基因重组等生物学效应的发生,从而使后代某些性状发生变异(Cohen, 1999),其中物理诱变手段主要采用激光、离子束、射线辐照,化学诱变方法主要是采用化学诱变剂,生物学的方法主要有细胞融合、转基因等方法。

物理诱变手段主要有紫外、离子束、射线辐照、激光及它们之间的复合诱变等方法。①紫外线:紫外线本身能够作为能量被物质吸收,并且具有设备简单、诱变效率高、操作安全简便等特点,所以广泛地用作微生物诱变剂。②离子束:重离子束带电粒子,能直接引起电离。重离子束与其他辐射和生物材料相互作用中具有明显优势,离子束具有高传能线性密度,且在射程的末端还有尖锐的电离峰。③射线辐照:用于诱变育种的有 X-射线、 γ -射线、中子束、电子束等,在育种工作中普遍存在 M1 代存活率低、M2 代突变谱窄、重复性差和诱变效率低等不足。④激光:具有能量密度高、靶点小、单色性和方向性好、诱变当代即可出现遗传性突变等特点,因此在工业微生物育种中得到广泛应用。激光辐射可以通过产生光、热、压力和电磁场效应的综合

作用，直接或间接地影响生物有机体，引起细胞 DNA 或 RNA、质粒、染色体畸变效应，酶的激活或钝化，以及细胞分裂和细胞代谢活动的改变（陈云琳等，2003）。

化学诱变的作用机制与物理诱变有很大区别，其诱变机制都是与 DNA 起化学作用，而且化学诱变剂往往具有专一性，它们对基因的某部位发生作用，对其余部位则无影响，突变主要为基因突变，并且主要是碱基的改变，其中尤以转换为多数。各种具有诱变作用的化学物质和碱基接触起化学反应，通过 DNA 的复制使碱基发生改变而起到诱变作用。通常使用的化学诱变剂包括：烷化剂、碱基类似物、移码突变剂及其他种类（赵爱娟，2005）。但化学诱变有一定的不足：突变方向难以掌握，具有很大的随机性；突变频率尚不够高；对后代突变体的鉴定所需工作量大；化学诱变剂毒性大，且具有残留效应。实践证明，大多数诱变对不同的生物体均能引起不利的遗传变异。为了提高诱变育种效率，许多科学家已对诱变剂量、诱变因素、诱变条件和筛选方法等做了较广泛系统的研究，并取得了较好的成效。

1.3.2 营养条件

微藻生长所需的营养元素有 15~20 种，主要为 C、N、P、Fe、Mn、Mo、Co、Zn 等元素（陈峰和姜悦，1999）。其中，绿藻生长必需的无机元素是 N、P、K、Mg、Ca、S、Fe、Cu、Mn、Zn（O'Kelley, 1968），培养小球藻时应用广泛的 Basal 培养基，即富含以上元素。为达到微藻生长、CO₂ 生物固定及生产生物柴油等目的，研究者对培养基碳源（Yeh et al., 2010）、氮源（Shen et al., 2010）、磷源（Khozin-Goldberg and Cohen, 2006）等的优化开展了大量工作。而如何高效资源化烟道气、污水培养微藻则是当前及今后的工作重点。

当前及今后生物柴油的市场需求量极大，微藻生产生物柴油具有产量高、所需土地面积小且不与农作物争地等优势（Chisti, 2007），成为目前生物能源领域中的开发热点。然而，由于微藻培养的成本仍然较高（李元广等，2009），极大限制了微藻生物柴油的生产。众所周知，很多污水中富含微藻可利用的营养物质，因此，将微藻的生产作为污水处理过程的一部分，不仅