

气液相等离子体增强微藻固碳与脱氮协同策略

李东傲^{1,2}, 张宏², 徐广辉^{2,3}, 沈洁^{2*}

(1. 安徽大学物质科学与信息技术研究院, 安徽合肥 230601;
2. 中国科学院合肥物质科学研究院等离子体物理研究所, 安徽合肥 230031;
3. 安徽理工大学地球与环境学院, 安徽淮南 232001)

摘要:以小球藻为研究对象, 采用气液相等离子体诱导产生液相 RONS 进行处理, 筛选出遗传信息改变的优势突变株 LA-F6。通过研究对比其与野生型藻株(WT)的生化性能、光合性能等指标差异, 探究诱变对小球藻脱氮和固碳效率的影响。结果显示, LA-F6 在培养周期内的最大生物量为 3.33 g/L, 脱氮效率 5.48%、固碳效率为 0.44 g/(L·d), 较野生型藻株分别提升 8.82%、1.84% 和 13.64%。同时, LA-F6 的光合性能、脂质和色素产量均得到显著提高。气液相等离子体增强微藻脱氮与固碳性能的协同策略, 可为碳减排、污染治理及多联产高附加值产品提供有效的思路 and 路径。

关键词:气液相等离子体; 微藻; 碳固定; 生物脱氮

中图分类号: X511; X173

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2026)02-0122-09

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2026.02.021

Gas-liquid phase plasma enhanced synergistic strategy for carbon fixation and denitrification in microalgae

LI Dong-ao^{1,2}, ZHANG Hong², XU Guang-hui^{2,3}, SHEN Jie^{2*}

(1. Institutes of Physical Science and Information Technology, Anhui University, Hefei 230601, China;
2. Institute of Plasma Physics, Hefei Institute of Physical Sciences, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;
3. School of Earth and Environment, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China)

Abstract: Using *Chlorella sp.* as the research subject, liquid-phase RONS induced by gas-liquid phase plasma was applied for treatment, and the dominant mutant strain LA-F6 with altered genetic information was screened. By comparing its biochemical and photosynthetic performance with that of the wild-type strain, the effect of mutagenesis on *Chlorella's* nitrogen removal and carbon fixation efficiency was explored. Results showed that during the cultivation period, LA-F6 achieved a maximum biomass of 3.33 g/L, nitrogen removal efficiency of 5.48%, and carbon fixation efficiency of 0.44 g/(L·d), corresponding to increases of 8.82%, 1.84%, and 13.64% over the wild-type strain, respectively. At the same time, LA-F6 exhibited significantly improved photosynthetic performance, lipid content, and pigment production. The synergistic strategy of enhancing microalgal nitrogen removal and carbon fixation performance through gas-liquid phase plasma provides an effective approach and pathway for carbon reduction, pollution treatment, and the co-production of high-value-added products.

Key words: gas-liquid phase plasma; microalgae; carbon fixation; biodenitrification

近年来, 世界各国在电力、工业及交通等领域的持续发展, 叠加化石能源燃烧等人为因素, 向环境中排放了大量 CO₂^[1-2]。截至 2023 年, 全球碳排放总量达到 35.83 Gt CO₂, 较 2020 年增长了 7.51%^[3]。碳排放量增加会加剧冰川融化和海水酸化等环境危机, 也会对人类健康产生严重影响^[4]。

迄今为止, 从环境中捕获 CO₂ 的常用方式主要分为化学吸收、物理吸附、膜分离和生物固碳等^[5]。然而, 这些传统方式通常会受到经济成本高、能耗高以及二次污染风险高等限制^[6]。相较来说, 生物固

碳技术由于具有环境友好、能耗低、固碳长效性以及资源可循环的优势, 在碳减排方面展现出巨大的应用潜力^[7]。微藻被称为高效固碳的细胞工厂, 通过光合作用捕集 CO₂, 不产生二次污染而产生对环境有利的 O₂^[8]。此外, 微藻来源广泛、培养成本低, 能够兼顾固碳和去除水体中营养物质, 而且其生物质可作为高附加值产品(如生物燃料和功能油脂)的原料, 高度符合可持续碳减排理念^[9]。刘明^[10]以精对苯二甲酸(PTA)废水为介质培养卵囊藻, 发现该方式可以同时实现碳固定和污水治理。

收稿日期: 2025-04-16; 修回日期: 2025-12-02

基金项目: 国家自然科学基金(51877208); 中国科学院湖北省科技合作专项

作者简介: 李东傲(2000-), 男, 硕士生, 研究方向为微藻环境治理及低温等离子体应用, daLee0119@foxmail.com; 沈洁(1971-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为低温等离子体应用, 通讯联系人, shenjie@ipp.ac.cn。

小球藻等微藻因能够在较高 CO_2 浓度下(15%~20%)正常生长而备受关注。Chang 等^[11]从猪废水中分离出能适应 40% CO_2 浓度的 *Chlorella sp.* 藻株。Sung 等^[12]分离出一种最高耐受 50% CO_2 浓度的淡水小球藻。然而, CO_2 在水体中具有逃逸性, 导致小球藻利用的碳源减少^[13]。此外, 微藻易受到环境因素(如氮源等)的干扰, 从而对其生理性能与固碳效率产生影响^[14-15]。马咸莹等^[16]通过改变培养基内的氮源浓度来驯化小球藻, 使其固碳速率达到 0.023 g/(L·h)。选取合适的菌株改良技术有利于获得性能优异的藻种, 对打破微藻碳捕获与资源化利用的技术瓶颈具有重要意义。

低温等离子体(Low-Temperature Plasma)是一种部分电离的非热平衡态气体放电产物, 含有大量活性物质(如带电粒子、激发态或基态原子、分子和自由基等)^[17]。因其操作温度较低, 对生物体的处理较为温和, 被广泛应用于菌种改良领域^[18]。相较于传统菌株改良技术, 其具有操作简单、突变率高和突变速度快等优点, 成为一种快速改变生物体基因型的有效方法^[19-20]。Song 等^[14]利用低温等离子体处理小球藻, 成功提升藻株的碳浓缩机制。结果表明, 突变株的碳固定速率提高了 10.8%。Tan 等^[21]基于大气室温等离子体(ARTP)诱变出能在 12% (v/v) CO_2 曝气浓度下生存的突变体, 并具有较高的碳固定率。值得注意的是, 气液相等离子体是指在液相表面或是液相里发生放电现象时, 产生的活性物质(RONS, Reactive Oxygen and Nitrogen Species)传质至液相中并发生一系列物理化学反应, 进而形成更多的液相活性物质诱导产生生物效应^[22]。

本研究采用气液相等离子体处理小球藻, 分析液相活性物质的生成, 小球藻的存活曲线, 以此确定最佳处理时间, 并定向筛选出具有固碳潜力的突变株。随后监测 RAPD-PCR、生物量、光合性能、脱氮效率、固碳效率和生化组分等响应指标, 分析突变株可能的固碳和脱氮途径。该研究为后续深入了解气液相等离子体改良微藻和微藻固碳机制等方面提供理论基础, 也为下一步微藻固碳多联产高附加值产品和减污降碳协同处理等技术转化提供一个新颖的思路和策略。

1 材料与方法

1.1 实验材料

野生型藻株为小球藻(FACHB-275), 来自中国科学院水生生物研究所淡水藻类保藏中心, 培养环

境为适合蓝绿藻生长的蓝绿(BG11)培养基。

1.2 藻株培养

将 2 mL 的藻悬浮液转移至 100 mL 的无菌 BG11 培养基中, 置于恒温光照培养箱中进行扩培(一式三份)。培养参数为: 全天暗/光周期为 8/16 h, 光强约为 $60 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 环境温度为 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。

1.3 气液相等离子体处理和筛选

实验所使用的气液相等离子体装置与笔者之前的研究一致^[23]。气液相等离子体处理参数为: 工作气氛为空气, 样品体积为 20 mL, 钢针与反应器底部间隔 2 cm, 气体流量为 2.5 L/h。实验过程中, 控制处理时间分别为 0、3、5、8、10、12、15、20 min, 随后对不同组的藻液进行化学检测。处理流程如图 1 所示。

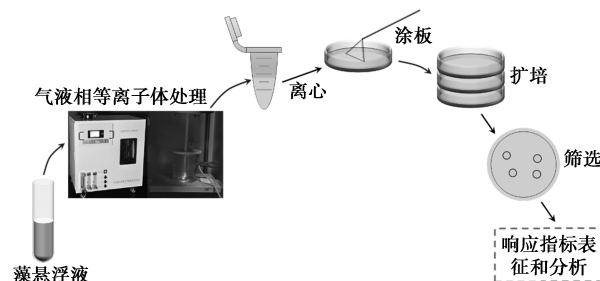


图 1 气液相等离子体处理小球藻流程图

根据小球藻的存活曲线确定出最佳菌株改良时间, 并通过稀释平板法挑选出颜色较深、体积较大的单菌落, 以建立突变株集合。随后将上述突变株转移至 48 孔板里, 并通过酶标仪监测生长^[24]。最后以生长、色素含量和脂质促进率为指标, 与野生型藻株进行对比, 定向筛选出具有固碳潜力的突变株。

1.4 实验分析与测试

1.4.1 小球藻存活率分析

使用紫外分光光度法, 于 680 nm 波长处测定小球藻的吸光度。小球藻存活率(S)根据式(1)计算^[25]:

$$S(\%) = [1 - (A_0 - A_T)/A_0] \times 100\% \quad (1)$$

其中, S 为小球藻存活率, %; A_0 和 A_T 分别为对照组和处理组在 680 nm 处的吸光度。

1.4.2 小球藻细胞内 ROS 和 NO 含量

分别使用活性氧(ROS)检测试剂盒(S0033S, 碧云天)和 NO 荧光探针(S0019S, 碧云天)对小球藻细胞内 ROS 和 NO 的含量进行检测^[26]。

1.4.3 生物量、比生长率和生长促进率的测定

通过重量法称取不同吸光度的藻细胞干重, 并通过式(2)计算比生长率(ξ); 通过式(3)计算生长促进率(X)^[27]:

$$\xi = \ln(B_2/B_1)/(T_2 - T_1) \quad (2)$$

$$X = [(B_2 - B_1)/B_1] \times 100\% \quad (3)$$

其中, ξ 为比生长率, d^{-1} ; X 为生长促进率, %; B_1 和 B_2 分别表示 T_1 和 T_2 阶段的生物量, g/L ; T_1 和 T_2 分别为培养时间, d 。

1.4.4 色素含量、脂质含量和脂质促进率的测定

使用乙醇[95% (v/v)]提取法对小球藻的色素进行提取和测定^[28-29]。根据式(4)~(6)计算各色素含量。

$$C_a = 13.95 \times A_{665} - 6.88 \times A_{649} \quad (4)$$

$$C_b = 24.96 \times A_{649} - 7.32 \times A_{665} \quad (5)$$

$$C_{ca} = (1000 \times A_{470} - 1.91 \times C_a - 95.15 \times C_b)/225 \quad (6)$$

其中, C_a 、 C_b 和 C_{ca} 分别对应叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量, mg/L ; A_{470} 、 A_{649} 和 A_{665} 分别为 470、649 nm 和 665 nm 处的吸光度。

采用尼罗红染色法,在 580 nm 下对小球藻脂质含量进行测定,方法为对 Song 等^[14]和 Chen 等^[27]先前研究的改良。脂质促进率(Y)利用式(7)计算:

$$Y = [(L_2 - L_1)/L_1] \times 100\% \quad (7)$$

其中, Y 为脂质促进率, %; L_1 和 L_2 分别是野生型和突变株的脂质含量, mg/L 。

1.4.5 DNA 随机扩增多态性 (RAPD-PCR) 测定

采用随机扩增多态性 DNA (RAPD-PCR) 技术,将突变株与野生型藻株进行对比,了解藻株之间的遗传差异程度^[30]。

1.4.6 光合作用、营养摄取和脱氮效率的测定

使用 Water-PAM 对小球藻的光合参数进行测定,方法改良自 Li 等^[31]研究。

采用纳什试剂分光光度法 (GB/T 7479—87) 和紫外分光光度法 (GB/T 322737—2016) 分别对细胞吸收的 NH_4^+-N 浓度和 NO_3^--N 浓度进行测量^[22]。

使用元素分析仪对小球藻内的氮元素含量进行测定。并利用式(8)计算小球藻的脱氮效率(R)^[14]。

$$R = (\Delta B/C_{am} \times 1000) \times \omega_{TN} \times 100\% \quad (8)$$

其中, R 为脱氮效率, %; ΔB 为小球藻在第 0 天和第 T 天的生物量差值, g/L ; C_{am} 为铵态氮浓度, mg/L ; ω_{TN} 为总氮元素含量, %。

1.4.7 CO_2 固定效率的测定

使用元素分析仪对小球藻内的碳元素含量进行检测。固碳效率(G)由式(9)计算^[31]:

$$G = [(B_T - B_0)/T] \times \omega_C \times (M_{CO_2}/M_C) \quad (9)$$

其中, G 为固碳效率, $g/(L \cdot d)$; B_0 和 B_T 分别为小球藻在第 0 天和第 T 天的生物量, g/L ; T 为培养时间, d ; ω_C 为碳元素含量, %; M_{CO_2}/M_C 为 CO_2 与 C 的相对分子质量比。

2 结果与讨论

2.1 气液相等离子体处理小球藻的存活曲线

图 2 显示了不同时间气液相等离子体处理下对小球藻存活率的影响。结果表明,小球藻存活率随着气液相等离子体处理时间的增加呈现出降低的趋势,说明随着处理时间的增加,对小球藻的氧化胁迫程度随之加剧。另外可以看出,在不同处理时间段,存活率的下降速率有所不同。在 0~5 min 内,存活率下降速率相对缓慢,于 5 min 时达到 71.96%;5~12 min 之间,降低速率显著提升,8 min 时已然降低至 48.37%,12 min 时降低至 8.08%。这可能是当气液相等离子体处理时间较短时,大多数细胞会通过调节自身的生理状态和体内的抗氧化机制,对外界活性物质的入侵进行抵抗^[32]。当处理时间再延长时,诱导产生的液相活性物质会使大多数细胞的抗氧化系统严重损伤,导致细胞存活率急剧降低。随着处理时间再次增加,存活率下降速率趋于稳定,最低降至 1.36%。此时存活率已经处于极低的水平,说明小球藻在该处理条件下,所遭受的氧化胁迫程度较深,甚至可能失去正常生长的能力。

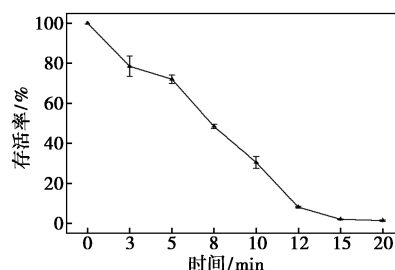
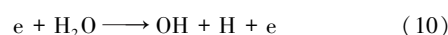


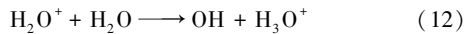
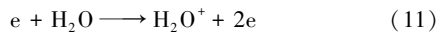
图 2 不同处理时间下小球藻的存活曲线

2.2 小球藻细胞内 RONS 含量

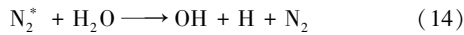
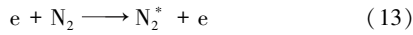
气相等离子体与液相环境发生相互作用,发生复杂的物理化学过程,包括气相与液相化学、界面反应、多相物质运输和传质等,从而引发丰富的液相 RONS^[33]。另外,各种活性物质在液界面又会引发多种后续的化学反应,在液相中生成各类 RONS,并诱导小球藻产生生物效应。

以空气为工作气氛,通过鼓泡的方式促进气相等离子体与液体之间的相互作用。随后发生气体分子激发、水分子电离和活性物质间传质与碰撞等过程,促使羟基自由基($\cdot OH$)和一氧化氮(NO)等 RONS 的生成^[34]。其中,水分子的直接解离诱导产生 $\cdot OH$ 的反应如式(10)~(12)所示^[35]:

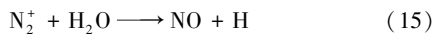




空气中氮气分子被激发并与水发生后续反应诱导·OH的反应如式(13)、(14)所示^[36]:



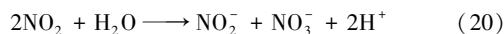
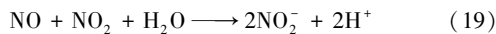
由于空气中含有氮气分子,其在放电时能够被激发,发生后续反应诱导NO的形成,如式(15)所示^[37]:



放电过程可能会生成原子N和原子O,两者相互作用诱导NO的形成。空气中氧气的存在,能够引发后续反应生成NO_x。如式(16)、(17)所示^[38]:



另外,上述某些活性物质会与H₂O反应,如式(18)~(20)所示^[23]:



上述液相RONS(如·OH和NO)作用于生物体时,会优先破坏细胞的膜结构,渗透进入细胞内部^[17]。图3显示了小球藻细胞内ROS和NO的含量及其变化。发现随着气液相等离子体处理时间递增,藻细胞内ROS与NO的生成水平呈先降后升的趋势。对比对照组,处理时间在5min之前时,ROS和NO荧光强度略有下降,ROS强度为449.53 a.u.;NO强度为387.33 a.u.。随着放电持续进行,又会使荧光强度逐渐增加。这可能是由于在处理的初期阶段(0~5min),小球藻启动细胞内的抗氧化防御机制,调节并维持由于外来的活性物质渗透所导致的氧化还原状态失衡。然而,随着处理时间的延长,活性物质的产生量逐渐超出小球藻的耐受范围,抗氧化能力受到破坏,从而使细胞内部的RONS逐渐

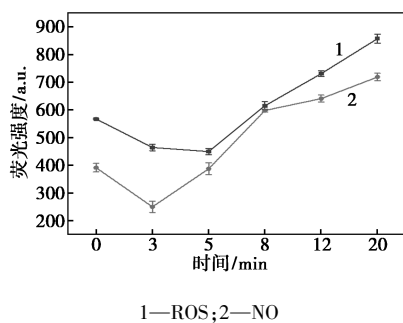


图3 不同处理时间下小球藻细胞内ROS和NO的含量变化

增加^[39],这一结果与小球藻的存活曲线数据以及相关推测保持一致。

2.3 气液相等离子体处理时间的确定

由现代诱变育种理论可知,当被处理的生物体致死率在90%~95%之间时,即存活率在5%~10%范围内,有利于获得优势突变藻株^[40]。当气液相等离子体处理时间为12min时,藻株存活率为8%左右,因此选取该时间点为最佳诱变时间。将等离子体处理0min和12min的藻悬浮液进行为期12d的复培养,比较两个时间点小球藻的比生长率以验证最佳诱变时间。如图4所示,等离子体处理12min的小球藻表现出更高的比生长率,高达0.37 d⁻¹;相比对照组(0min)的0.14 d⁻¹提高了1.64倍。因此,等离子体处理12min为小球藻最佳诱变时间节点。

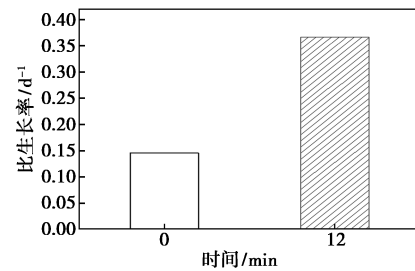
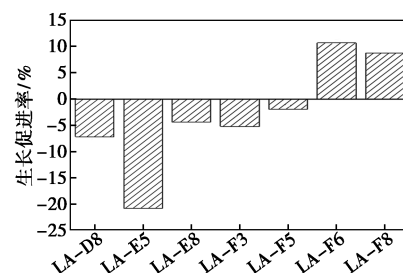


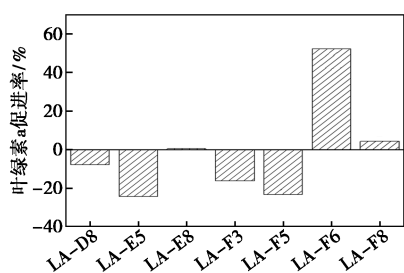
图4 不同处理时间小球藻比生长率的比较

2.4 突变株的定向筛选

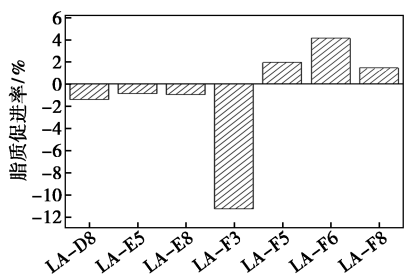
为了定向筛选出理想突变体,先从上述的突变体集合中挑选出生长状况较好的突变株,分别测定生长促进率、叶绿素a促进率和脂质促进率,如图5所示。与野生型藻株相比,突变株LA-F6和LA-F8的生物量分别增加了10.70%和8.75%,如图5(a)所示。叶绿素a是小球藻光合作用的关键色素,能够吸收和转化光能。图5(b)表示了突变体叶绿素a含量的变化情况。发现与野生型藻株相比,LA-F6和LA-F8的叶绿素a含量分别提高52.23%(达0.56 mg/L)和4.31%。图5(c)显示了突变株的脂质促进率。突变株LA-F6的脂质含量相较于野生



(a) 生长促进率



(b) 叶绿素 a 促进率



(c) 脂质促进率

图 5 突变藻的定向筛选

型增加显著,达到 9.65 mg/L,同比增长 4.11%。综上所述,气液相等离子体诱导产生的 RONS 会对小球藻造成氧化应激,迫使小球藻通过自身的 SOS 修复机制来修复损伤,从而发生遗传信息的改变^[19,40]。LA-F6 在多方面表现出较为优异的生化 and 生理性能,可以作为一种具有高固碳潜力的突变株。

2.5 突变株 RAPD-PCR 测定

图 6 显示了野生型藻株和 LA-F6 之间的遗传信息存在显著的多态性。另外,在 6 对引物中,均能观察到电泳图谱的关键变化,主要表现为 DNA 碱基对的缺失(条带消失)或插入(出现新条带),该现象被认为是与引物-模板结合位点的遗传性基因突变相关^[30]。同时也说明 LA-F6 是经过气液相等离子体诱导的突变藻株。

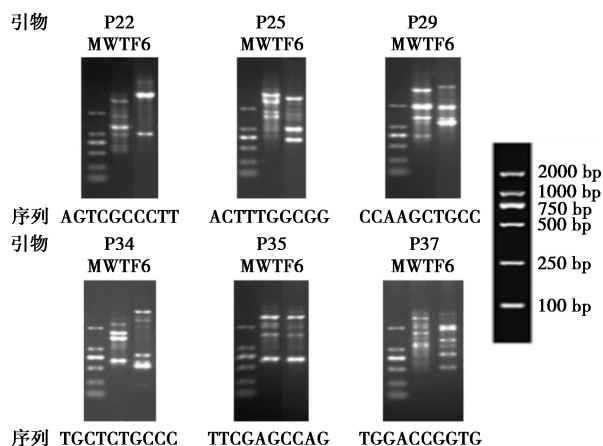
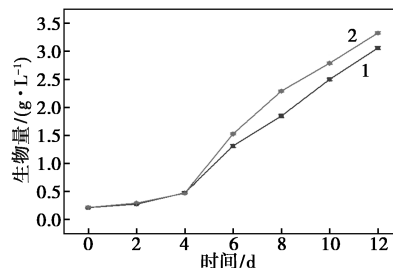


图 6 野生型与 LA-F6 的 RAPD 电泳图谱

2.6 对藻株生化性能的影响

2.6.1 对生长性能的影响

为了解突变株生长性能的变化,对其进行为期 12 d 的培养,并测定生物量。如图 7 所示,发现突变株的生物量一直高于野生型藻株(WT)。第 12 d 时突变株和野生型藻株的生物量分别达到 3.06 g/L 和 3.33 g/L,突变株的生物量同比增长 8.82%。这直接表明在相同的接种量下,突变株拥有更高的生长速率。结合上述的 RAPD 图谱,说明这是由于气液相等离子体对藻株产生突变效应,遗传信息的改变本质上影响了藻株的生长代谢通路和途径,使其向着有利于藻株生长、发育和繁殖的方向进行调整。另外,生长速率的提升可显著促进其固碳能力,同时对其他相关生理变化和代谢产物合成等方面也呈现积极影响^[26]。

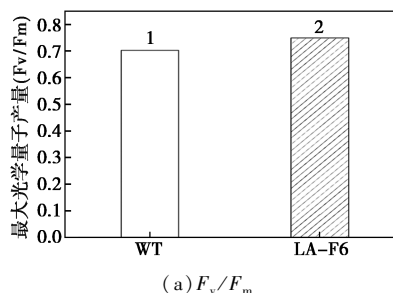


1—WT;2—LA-F6

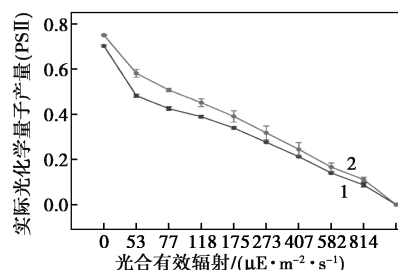
图 7 藻株的生长曲线

2.6.2 对光合性能的影响

植物的光合参数与其光合性能的表现密切相关,能够反映出植物在光能吸收、转化和光保护等方面的变化。基于此,对突变株 LA-F6 的 4 种光合参数做测定并与野生型藻株对比,结果如图 8 所示。



(a) F_v/F_m



(b) PS II

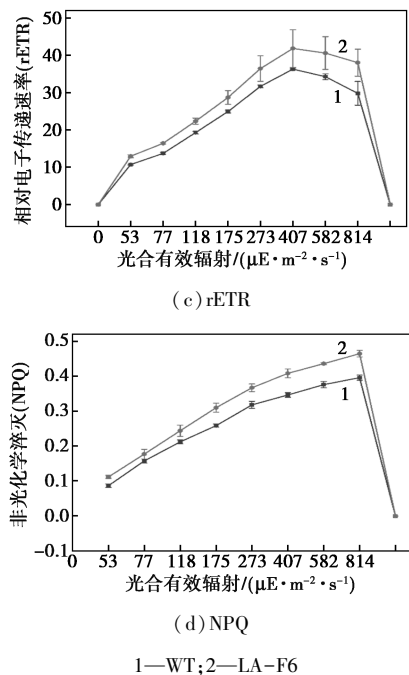


图8 藻株的光合参数

图8(a)显示了突变株的最大光化学量子产量(F_v/F_m),其通常被用来评估植物光合和生长性能^[41]。结果显示,在培养周期内,两个藻株的 F_v/F_m 值分别达到0.70和0.75,均处在生长的正常范围内^[42]。同时突变株 F_v/F_m 相较于野生型藻株提升6.67%,表明气液相等离子体提升了LA-F6的光合性能,使其在光能转化为化学能方面具有更大的潜力。

图8(b)显示藻株的实际光化学效率,并发现突变株的PSII值高于野生型藻株。该现象说明突变株的PSII反应中心在利用光能方面具有更大优势,能够更好地将光能转化为用于光合作用的化学能。从图8(c)可以看出,相较于野生型藻株,突变株的rETR曲线较高,并且在407 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,rETR值达到最高,为41.87。直接表明突变株的电子在光合电子传递链上有较快的传递速率,光反应能够更高效地将光能转化为化学能^[43]。同时也说明其具有良好的光适应能力,能够根据光强变化及时调整电子传递速率,以充分利用光能并避免光损伤。为验证此结果,对突变株的非光化学淬灭系数(NPQ)进行测定,如图8(d)所示,结果显示出相似的趋势。NPQ的提高表示在光能过多的情况下,突变株能够有效地启动光保护机制,合理分配光能到光化学反应和热耗散过程,避免过多的光能对光合系统造成损伤^[44]。综合来看,突变株PSII增强可提升光能捕获与转化效率,rETR增强利于光合电子传递,

NPQ增强能有效耗散过剩光能避免光损伤,三者协同促进光合效率、增强光合系统功能并优化固碳过程。

2.6.3 对脱氮能力的影响

铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)是能被小球藻直接利用的无机氮源,用于自身含氮化合物(包括蛋白质和核酸等)的合成。图9显示了培养过程中野生型藻株和LA-F6对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除能力。结果表明,随着培养周期的延长,培养基中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量逐渐减少,如图9(a)所示。培养周期结束时,野生型藻株和LA-F6的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量分别降至44.84 mg/L和33.55 mg/L,分别降低了64.13%和73.16%。相比之下,野生型藻株和LA-F6的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量分别降至85.35 mg/L和79.79 mg/L,仅分别降低了14.65%和20.21%,下降缓慢,如图9(b)所示。这是由于小球藻会优先利用容易吸收的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,在无需还原的情况下直接参与氨基酸(如谷氨酸)和蛋白质等化合物的合成。然而, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 则不同,其需要先被还原成亚硝酸盐,随后再被还原成 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 参与合成^[45]。另外,突变株相较于野生型藻株,其对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的吸收量均有所增加。这是由于突变株的生理状态得到提升,需要更多的营养盐来进行生长代谢等生命活动。

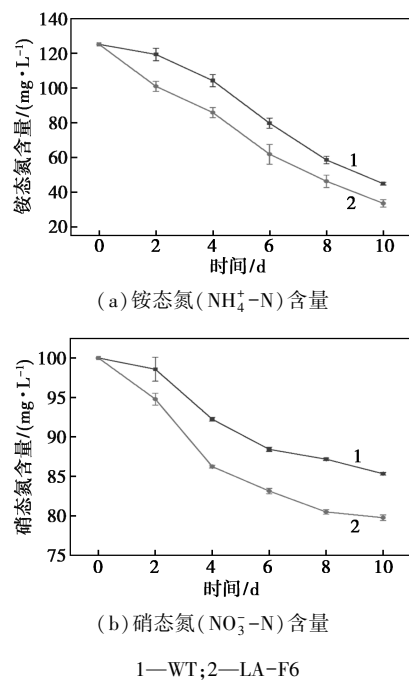


图9 藻株脱氮能力的测定

图10显示了野生株和突变株的脱氮效率。当培养至第10 d时,野生型和LA-F6的脱氮效率分

别达到 3.64% 和 5.48%, LA-F6 的脱氮效率提升 1.84 个百分点。这主要是由于突变株光合作用和生物量积累能力的增强促进了氮同化能力的提高, 因此表现出更高的脱氮效率^[46]。突变株脱氮效率的提升可高效去除水体氮素、促进有机污染物分解, 减少二次污染并有利于水污染治理。

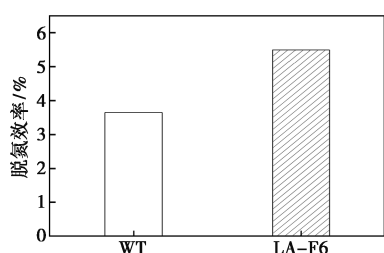


图 10 藻株的脱氮效率

2.6.4 对碳固定效率的影响

图 11 显示了突变株相较于野生株的固碳效率变化。结果表明, 在培养周期(12 d)结束时, 野生株的固碳效率为 0.38 g/(L·d), 而 LA-F6 的固碳效率达到 0.44 g/(L·d), 提高了 13.64%。这是由于遗传信息改变增强了突变株 LA-F6 的光合性能, 提升其光能利用效率, 同时促使光合作用相关基因过度表达, 增加相关蛋白和酶的合成, 从而吸收更多 CO₂, 使固碳效率得到提升。另外, 光合效率的提升可能增强卡尔文循环进程(如 CO₂ 固定和三碳化合物的还原等), 加速相关碳代谢过程, 从而显著提升固碳效率。突变株固碳效率的提高可有效推动微藻在环境及生物能源方向的应用与发展。

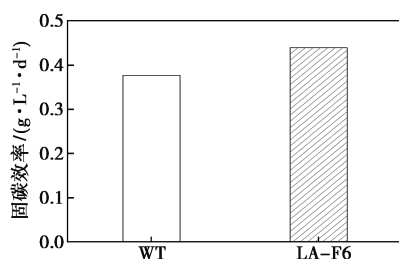


图 11 藻株固碳效率的变化

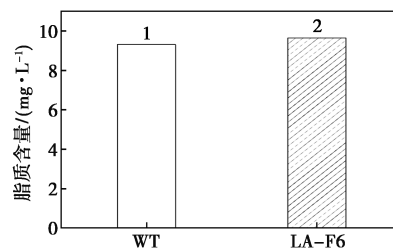
2.6.5 对多联产高附加值产品的影响

有研究表明, 单位面积微藻的产脂率要高于传统植物, 其中的脂肪酸被认为是生产生物柴油的优质原料^[47-48]。图 12(a) 显示了野生株和 LA-F6 的脂质含量变化情况。结果表明, 在培养周期结束时, LA-F6 的产脂量为 9.65 mg/L, 相较于野生株的 9.31 mg/L, 增加了 3.55%。

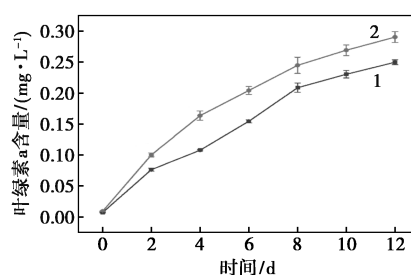
小球藻体内的叶绿素主要分为叶绿素 a 和叶绿

素 b。叶绿素 a 是光合作用关键色素, 直接参与光反应驱动电子传递链; 而叶绿素 b 作为辅助色素, 通过吸收并传递光能帮助叶绿素 a 提升光能捕获效率。图 12(b) 和图 12(c) 分别显示了野生株和 LA-F6 的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量随时间的变化情况。结果显示, 在第 12 d 时, 野生株的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量分别为 0.25 mg/L 和 0.09 mg/L, 而 LA-F6 的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量分别为 0.29 mg/L 和 0.11 mg/L, 分别增长 13.96% 和 18.75%。可以发现, 突变株中叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量相较于野生株均得到增加。这与上述突变株光合能力提升结果相一致。

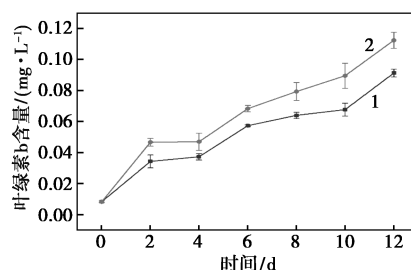
类胡萝卜素不仅可以保护小球藻体内的叶绿素免受光氧化损伤, 还能调控其生长、发育和繁殖。另外, 某些胡萝卜素还能被应用于食品和医药行业, 具有极大的实用性。图 12(d) 是野生株和 LA-F6 中的类胡萝卜素含量变化情况。与前者一致, 其含量同样随着培养时间的增加而逐渐上升。在第 12 d 时, 野生株的类胡萝卜素含量为 0.08 mg/L 左右, 突变株 LA-F6 的类胡萝卜素含量为 0.10 mg/L 左右, 增长 24.08%。



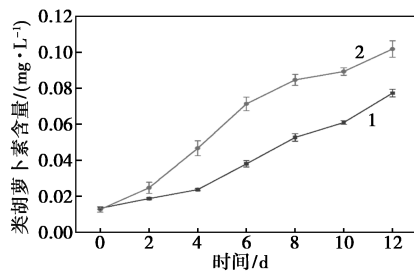
(a) 脂质含量



(b) 叶绿素 a 含量



(c) 叶绿素 b 含量



(d) 类胡萝卜素含量

1—WT; 2—LA-F6

图 12 气液相等离子体对小球藻多联产高附加值产品的影响

综合来看,突变株可通过调控代谢和提升光合性能来增加生物量,达到高效固碳助力碳减排,实现环境效益与高附加值产品(生物燃料、天然色素和功能油脂)生产协同发展。

3 结论

以小球藻为研究对象,利用气相等离子体与液相环境发生的一系列相互作用,引发产生各种液相 ROS 对其进行处理,诱导细胞内 ROS 和 NO 的增加,使其遗传信息发生改变。根据小球藻存活曲线确定了最优菌种改良时间为 12 min,并经过多轮筛选获得一株具有高固碳潜力的突变株 LA-F6。随后对突变株与野生株之间在生长性能、光合性能、营养摄取性能、脱氮性能、固碳性能以及多联产高附加值产品方面的差异进行分析。结果显示,LA-F6 的生物量、脱氮效率和固碳效率分别达到 3.33 g/L、5.48% 和 0.44 g/(L·d),相较于野生株分别提高 8.82%、1.84 个百分点和 13.64%。同时,菌种改良对突变株的光合参数产生较大影响,使其光合色素含量得到提升并具有优异的光合性能和适应能力。最后,突变株脂质产量和色素产量均得到显著提高,说明菌种改良赋予其良好的多联产高附加值产品的能力。因此,基于气液相等离子体增强微藻脱氮和固碳性能的协同策略,是同步碳减排、污染治理和实现高附加值产品生产的有效思路和途径。

参考文献

- [1] Tian S, Wu W, Chen S, et al. Global trends in carbon sequestration and oxygen release: From the past to the future[J]. Resources, Conservation and Recycling, 2023, 199: 107279.
- [2] 秦振芳, 廖日红, 马伟芳. 吸收-微藻法固定燃气电厂低浓度 CO₂ 同步产油技术研究进展[J]. 化工进展, 2023, 42(1): 94-106.
- [3] Liu Z, Deng Z, Davis S J, et al. Global carbon emissions in 2023 [J]. Nature Reviews Earth & Environment, 2024, 5(4): 253-254.
- [4] 王强, 党牛, 蒋子龙, 等. 碳中和背景下能源转型研究综述与展望[J]. 地理学报, 2025, 80(3): 586-604.
- [5] Zhang P, Tong J, Huang K, et al. The current status of high temperature electrochemistry-based CO₂ transport membranes and reactors for direct CO₂ capture and conversion[J]. Progress in Energy and Combustion Science, 2021, 82: 100888.
- [6] 韩晓轩. 低温等离子体诱导藻株对“化学吸收-微藻转化”耦合固碳系统的影响[D]. 天津: 天津大学, 2021.
- [7] Cheng Y W, Lim J S M, Chong C C, et al. Unravelling CO₂ capture performance of microalgae cultivation and other technologies via comparative carbon balance analysis[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2021, 9(6): 106519.
- [8] 莫壮洪, 朱俊英, 李煦, 等. 微藻生物固定 CO₂ 耦合污染物减排技术应用及展望[J]. 石油学报(石油加工), 2024, 40(5): 1430-1445.
- [9] Kong W, Shen B, Lyu H, et al. Review on carbon dioxide fixation coupled with nutrients removal from wastewater by microalgae[J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 292: 125975.
- [10] 刘明. 以 PTA 废水为介质的微藻固碳研究[J]. 现代化工, 2022, 42(12): 221-228, 234.
- [11] Chang E H, Yang S S. Some characteristics of microalgae isolated in Taiwan for biofixation of carbon dioxide[J]. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 2003, 44: 43-52.
- [12] Sung K D, Lee J S, Shin C S, et al. Isolation of a new highly CO₂ tolerant fresh water microalga *Chlorella sp.* KR-1 [J]. Renewable Energy, 1999, 16(1/4): 1019-1022.
- [13] Song C, Han X, Yin Q, et al. Performance intensification of CO₂ absorption and microalgae conversion (CAMC) hybrid system via low temperature plasma (LTP) treatment[J]. Science of the Total Environment, 2021, 801: 149791.
- [14] Song K, Zhou Z, Huang Y, et al. Multi-omics insights into the mechanism of the high-temperature tolerance in a thermotolerant *Chlorella sorokiniana* [J]. Bioresource Technology, 2023, 390: 129859.
- [15] 王倩雅, 罗舒怀, 张莹, 等. 不同初始氮浓度下尖状栅藻同化硝态氮和 CO₂ 的研究[J]. 植物科学学报, 2017, 35(4): 583-591.
- [16] 马咸莹, 摆倩文, 丁功涛. 不同氮源对栅藻和小球藻生长及固碳的影响[J]. 现代化工, 2021, 41(12): 140-145.
- [17] Li D, Shen J, Ding Q, et al. Recent progress of atmospheric and room-temperature plasma as a new and promising mutagenesis technology[J]. Cell Biochemistry and Function, 2024, 42(3): e3991.
- [18] Heslin C, Boehm D, Gilmore B F, et al. Biomolecules as model indicators of in vitro and in vivo cold plasma safety[J]. Frontiers in Physics, 2021, 8: 613046.
- [19] Zhang X, Zhang X F, Li H P, et al. Atmospheric and room temperature plasma (ARTP) as a new powerful mutagenesis tool[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98: 5387-5396.
- [20] Zhang X, Zhang C, Zhou Q Q, et al. Quantitative evaluation of DNA damage and mutation rate by atmospheric and room-temperature plasma (ARTP) and conventional mutagenesis[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(13): 5639-5646.
- [21] Tan Y, Fang M, Jin L, et al. Culture characteristics of the atmos-

- pheric and room temperature plasma-mutated *Spirulina platensis* mutants in CO₂ aeration culture system for biomass production[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 120(4):438-443.
- [22] Xu Z, Zhu B, Xue X, et al. Study on immediate and long-term growth inhibition of *Microcystis aeruginosa* by non-thermal plasma[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 429:132397.
- [23] Shen J, Zhang H, Xu Z, et al. Preferential production of reactive species and bactericidal efficacy of gas-liquid plasma discharge[J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 362:402-412.
- [24] Liu Y, Chen X, Wei D, et al. Rapid screening of high-protein *Auxenochlorella pyrenoidosa* mutant by an integrated system of atmospheric and room temperature plasma mutagenesis and high-throughput microbial microdroplet culture[J]. Algal Research, 2024, 80:103509.
- [25] Saifuddin N, Puvunathan P, Aisswarya K, et al. Sequestration of high carbon dioxide concentration for induction of lipids in microalgae for biodiesel production[J]. Journal of Applied Sciences, 2015, 15(8):1045-1058.
- [26] 陈祝.低温等离子体刺激雨生红球藻生长及虾青素积累机制的研究[D].合肥:中国科学技术大学,2020.
- [27] Chen L, Quan Y, Liu S, et al. Enhancing alpha-linolenic acid content in a promising microbiology food (*Chlorella sp.L166*) via low-temperature plasma[J]. LWT-Food Science and Technology, 2025, 216:117370.
- [28] Kulkarni S, Nikolov Z. Process for selective extraction of pigments and functional proteins from *Chlorella vulgaris*[J]. Algal Research, 2018, 35:185-193.
- [29] 张效铭,刘颖颖,崔红利,等.化学吸收剂单乙醇胺强化小球藻生长代谢及固碳效应的研究[J].激光生物学报,2022,31(4):311-320.
- [30] Liu J, Chen J, Chen Z, et al. Isolation and characterization of astaxanthin-hyperproducing mutants of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) produced by dielectric barrier discharge plasma[J]. Phycologia, 2016, 55(6):650-658.
- [31] Li L, Wu Y, Acheampong A, et al. Red light promotes autotrophic growth of *Haematococcus pluvialis* with improved carbonic anhydrase activity and CO₂ utilization[J]. Aquaculture, 2023, 571:739462.
- [32] Wang B, Ye T, Li C, et al. Cell damage repair mechanism in a desert green algae *Chlorella sp.* against UV-B radiation[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 242:113916.
- [33] Samukawa S, Hori M, Rauf S, et al. The 2012 plasma roadmap[J]. Journal of Physics D: Applied Physics, 2012, 45(25):253001.
- [34] Ikawa S, Kitano K, Hamaguchi S. Effects of pH on bacterial inactivation in aqueous solutions due to low-temperature atmospheric pressure plasma application[J]. Plasma Processes and Polymers, 2010, 7(1):33-42.
- [35] Murugesan P, Moses J A, Anandharamkrishnan C. Performance of an atmospheric plasma discharge reactor for inactivation of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli* in aqueous media[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2020, 8(4):103891.
- [36] Ke Z, Thopan P, Fridman G, et al. Effect of N₂/O₂ composition on inactivation efficiency of *Escherichia coli* by discharge plasma at the gas-solution interface[J]. Clinical Plasma Medicine, 2017, 7:1-8.
- [37] Tian Y, Guo J, Wu D, et al. The potential regulatory effect of nitric oxide in plasma activated water on cell growth of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of Applied Physics, 2017, 122(12):123302.
- [38] Hänsch M A C, Mann M, Weltmann K D, et al. Analysis of antibacterial efficacy of plasma-treated sodium chloride solutions[J]. Journal of Physics D: Applied Physics, 2015, 48(45):454001.
- [39] Li W, Luna-Flores C H, Anangi R, et al. Oxidative stress induced by plasma-activated water stimulates astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma*[J]. Bioresource Technology, 2023, 369:128370.
- [40] Cao S, Zhou X, Jin W B, et al. Improving of lipid productivity of the oleaginous microalgae *Chlorella pyrenoidosa* via atmospheric and room temperature plasma (ARTP)[J]. Bioresource Technology, 2017, 244:1400-1406.
- [41] 黄峰,孙昕,位文倩,等.不同输入电压等离子体诱变对双对栅藻生长、光合性能及油脂积累的影响[J].中国油脂,2022,47(1):101-106.
- [42] Liu X Y, Hong Y, Zhao G P, et al. Microalgae-based swine wastewater treatment: Strain screening, conditions optimization, physiological activity and biomass potential[J]. Science of The Total Environment, 2022, 807:151008.
- [43] Wang J, Li X, Wang J F, et al. Comparative proteomics reveals energy and carbon metabolism changes in *Scenedesmus quadricauda* mutants induced by heavy-ion beam irradiation[J]. Bioresource Technology, 2024, 406:130965.
- [44] Girolomoni L, Bellamoli F, de la Cruz Valbuena G, et al. Evolutionary divergence of photoprotection in the green algal lineage: A plant-like violaxanthin de-epoxidase enzyme activates the xanthophyll cycle in the green alga *Chlorella vulgaris* modulating photoprotection[J]. New Phytologist, 2020, 228(1):136-150.
- [45] Liang C, Yang X, Wang L, et al. Different physiological and molecular responses of the green algae *Chlorella variabilis* to long-term and short-term elevated CO₂[J]. Journal of Applied Phycology, 2020, 32(1):951-966.
- [46] Pozzobon V, Cui N, Moreaud A, et al. Nitrate and nitrite as mixed source of nitrogen for *Chlorella vulgaris*: Growth, nitrogen uptake and pigment contents[J]. Bioresource Technology, 2021, 330:124995.
- [47] Kumar M, Sun Y, Rathour R, et al. Algae as potential feedstock for the production of biofuels and value-added products: Opportunities and challenges[J]. Science of the Total Environment, 2020, 716:137116.
- [48] Thakur I S, Kumar M, Varjani S J, et al. Sequestration and utilization of carbon dioxide by chemical and biological methods for biofuels and biomaterials by chemoautotrophs: Opportunities and challenges[J]. Bioresource Technology, 2018, 256:478-490. ■