

分类号: Q81

单位代码: 10363

密 级: 公开

学号: 2220520109

微藻基碳量子点绿色合成及其调控微藻生长与油脂 积累研究

Green Synthesis of Microalgae-Based Carbon Quantum Dots and Their Regulation: Research on Microalgae Growth and Oil Accumulation

学 生 姓 名: 杨勇

校 内 教 师: 李艳宾(教授)

校 外 导 师: 唐金鹏

专业学位类别: 生物与医药

研 究 方 向: 生物技术与工程

论文答辩日期: 2025年5月15日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者签名：

Handwritten signature of the author, Yang Yong, in black ink.

日期： 2025 年 5 月 18 日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在 ___ 年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☐

杨勇

学位论文作者签名

日期：2025 年 5 月 18 日

指导教师签名：

李艳宾

日期：2025 年 5 月 18 日

微藻基碳量子点绿色合成及其调控微藻生长与油脂 积累研究

摘 要

近年来微藻作为理想的生物燃料来源，以及高附加值化合物原料，吸引了各界高度关注。但高价值化合物被提取后的微藻残渣如何处理，目前仍缺乏有效措施。利用各类生物质前体绿色合成碳量子点（CQDs）的可行性已得到广泛证实。CQDs 作为一种新型纳米材料，因其独特的光学性质与良好的生物相容性，在生物技术领域展现出广阔的应用前景。本研究以小球藻 *Chlorella* sp. DT025 提取油脂后的微藻残渣为原料制备 CQDs，探讨其作为外源添加物对 *Chlorella* sp. DT025 生长与产油的影响，并通过分析藻细胞氧化应激水平及油脂合成与光合作用关键酶基因表达情况，探究 CQDs 添加对 *Chlorella* sp. DT025 生长及代谢的调节机制。主要研究结果如下：

（1）通过水热法成功制备纯藻渣 CQDs（M-CQDs），最佳激发波长与发射波长分别为 443 和 534 nm。为进一步改善微藻基 CQDs 的荧光特性，分别以不同掺杂方式制备出掺杂 CQDs。其中以柠檬酸为辅助碳源水热法制备得到 C-CQDs，最佳发射波长为 428 nm。以硫酸调节水热法制备所得的 S-CQDs 产生了远红光发射，最佳发射波长为 653 nm。采用醋酸调节，分别以水热法和醇热法制备

得到的 H-CQDs 和 HC-CQDs，同样具备红色荧光，最佳激发波长为 700 nm。上述 CQDs 的尺寸均匀且均小于 3 nm，且水溶性和分散性良好。以上结果表明藻渣制备 CQDs 的可行性，并可通过不同掺杂策略获得具有不同光学特性的改性 CQDs。

(2) 在 M-CQDs 添加量为 10 mg/L、5000 lx 光照培养条件下，小球藻细胞干重和油脂产量分别达到 4.06 和 1.13 g/L，相较于未添加 CQDs 对照组分别提高了 15.67%和 56.00%。然而，M-CQDs 的促进效果受到光照强度的限制，在光照强度为 8000 lx，M-CQDs 添加后小球藻细胞干重为 4.20 g/L，较对照组降低了 3.23%。改性后的 CQDs 则在不同光照强度下都有很好的效果。光照强度为 5000 和 8000 lx 时，添加 10 mg/L S-CQDs，小球藻细胞干重分别提高了 3.23%和 5.53%，油脂产量分别提升了 28.52%和 40.48%；添加 20 mg/L H-CQDs，小球藻细胞干重分别提高了 35.80%和 24.67%，油脂产量分别提升了 33.43%和 37.62%；添加 20 mg/L HC-CQDs，小球藻细胞干重分别提高了 28.04%和 27.60%，油脂产量分别提升了 25.13%和 40.45%。此外，微藻基 CQDs 的添加，改善了小球藻的脂肪酸组分，C16-C18 脂肪酸含量提升 21.31%~84.34%，C18:1 脂肪酸含量提升 23.91%~112.79%。以上结果表明，微藻基 CQDs 对小球藻生长及油脂积累具备促进作用，并且具备浓度与光照依赖特性。

(3) 微藻基 CQDs 添加降低了小球藻中丙二醛 (MDA) 的含量，有效抑制了脂质过氧化反应。M-CQDs 抗氧化酶活性降低了氧

化应激水平，S-CQDs 促进电子传递减少活性氧的生成，H-CQDs 和 HC-CQDs 通过增强其他抗氧化系统，稳定培养体系。添加 M-CQDs 后，小球藻乙酰 CoA 羧化酶 α 亚基基因 (*acc*)、苹果酸脱氢酶基因 (*mdh*)、1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶大亚基基因 (*rbcl*) 与乙酰 CoA 合成酶 2 基因 (*acs2*) 相对表达量分别提升 6.99、4.16、5.98 和 4.98 倍，磷酸烯醇丙酮酸羧化酶基因 (*ppc*) 相对表达量则有所下调。添加 S-CQDs 后，小球藻中 *acc*、*mdh*、*rbcl* 与 *acs2* 相对表达量分别提升 5.38、4.10、6.70 和 5.34 倍，*ppc* 相对表达量同样有所下调。添加 H-CQDs 与 HC-CQDs 后，小球藻 *mdh* 分别上调 5.58 和 5.81 倍、*rbcl* 则分别上调了 8.28 和 8.85 倍、*ppc* 相对表达量分别上调了 6.04 和 8.17 倍。以上结果揭示了微藻基 CQDs 对小球藻“抗氧化-代谢调控”的双重作用及对碳代谢途径的不同调控机制。

关键词：*Chlorella* sp. DT025，藻渣，碳量子点，掺杂，油脂积累，氧化应激

GREEN SYNTHESIS OF MICROALGAE-BASED CARBON QUANTUM DOTS AND THEIR REGULATION: RESEARCH ON MICROALGAE GROWTH AND OIL ACCUMULATION

ABSTRACT

In recent years, microalgae have recently attracted significant attention as ideal sources for biofuel production and high-value compounds. However, effective strategies for utilizing residual biomass after high-value compound extraction remain underexplored. Carbon quantum dots (CQDs), a novel nanomaterial with unique optical properties and biocompatibility, have demonstrated broad application prospects in biotechnology. This study utilized lipid-extracted residues of *Chlorella* sp. DT025 to synthesize microalgae-based CQDs (M-CQDs) through hydrothermal methods. The regulatory effects of CQDs as exogenous additives on algal growth and lipid accumulation were systematically investigated, with mechanistic insights elucidated through oxidative stress analysis and transcriptional regulation of lipid biosynthesis genes. Key findings are summarized as follows:

(1) M-CQDs exhibited optimal excitation/emission wavelengths at 443/534 nm. Modified CQDs with enhanced fluorescence properties were successfully synthesized via doping strategies: Citric acid-assisted C-CQDs showed blue-shifted emission (428 nm), while sulfuric acid-modified S-CQDs demonstrated far-red emission (653 nm) with 19.39% intensity enhancement. Acetic acid-treated H-CQDs and HC-CQDs exhibited red fluorescence (700 nm excitation). TEM characterization revealed uniform particle sizes <3 nm, and FTIR analysis confirmed excellent hydrophilicity.

(2) The aforementioned CQDs were introduced into the *Chlorella* sp. DT025 cultivation system as exogenous additives to investigate their effects on microalgal growth and lipid accumulation. Experimental results demonstrated that under 5000 lx illumination with 10 mg/L M-CQDs supplementation, maximum dry cell weight (4.06 g/L) and lipid yield (1.13 g/L) of *Chlorella* were achieved, representing 15.67% and 56.00% enhancements respectively compared with the control group without CQDs. However, the promotional effects of M-CQDs were observed to be illumination-dependent, as evidenced by a 3.23% reduction in biomass (4.20 g/L) compared to controls when illumination intensity was elevated to 8000 lx. In contrast, modified CQDs exhibited superior performance across varying light intensities. When supplemented with 10 mg/L S-CQDs under 5000 lx and 8000 lx illumination, biomass productivity was enhanced by 3.23% and 5.53%, accompanied by 28.52% and 40.48% lipid yield increments, respectively. The addition of 20 mg/L H-CQDs resulted in 35.80% and 24.67% biomass improvements with corresponding 33.43% and 37.62% lipid yield enhancements. Similarly, 20 mg/L HC-CQDs supplementation induced 28.04% and 27.60% biomass increases, coupled with 25.13% and 40.45% lipid production boosts under respective illumination conditions. Additionally, microalgae-based CQDs were found to significantly modify fatty acid profiles, with C16-C18 fatty acid content being elevated by 21.31%-84.34% and C18:1 fatty acid concentrations increased by 23.91%-112.79%. These findings collectively indicate that microalgae-based CQDs effectively promote both biomass accumulation and lipid biosynthesis in *Chlorella* sp.rrrr, while demonstrating distinct light-intensity dependency in their bio-enhancement performance.

(3) Mechanistic studies revealed that CQDs mitigated oxidative stress by reducing malondialdehyde (MDA) levels through distinct

pathways: M-CQDs enhanced antioxidant enzyme activity, S-CQDs optimized electron transport to suppress ROS generation, while H-CQDs and HC-CQDs stabilized membrane structures via non-enzymatic systems. Following the addition of M-CQDs, the relative expression levels of *Chlorella* sp. genes - including the acetyl-CoA carboxylase α subunit gene (*acc*), malate dehydrogenase gene (*mdh*), ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit gene (*rbcl*), and acetyl-CoA synthetase 2 gene (*acs2*) - were observed to be upregulated by 6.99-, 4.16-, 5.98-, and 4.98-fold, respectively. In contrast, the relative expression level of phosphoenolpyruvate carboxylase gene (*ppc*) was downregulated. Upon treatment with S-CQDs, the *acc*, *mdh*, *rbcl*, and *acs2* genes in *Chlorella* sp. exhibited expression enhancements of 5.38-, 4.10-, 6.70-, and 5.34-fold, respectively, while similar downregulation of *ppc* gene expression was detected. Notably different regulatory patterns were observed with H-CQDs and HC-CQDs treatments: the *mdh* gene expression was upregulated by 5.58- and 5.81-fold, respectively; *rbcl* expression increased by 8.28- and 8.85-fold, respectively; and contrary to previous observations, *ppc* expression demonstrated upregulation of 6.04- and 8.17-fold, respectively. These findings elucidate the dual "antioxidant-metabolic regulation" effects of microalgae-based CQDs and their differential modulation of carbon allocation pathways.

KEY WORDS: *Chlorella* sp. DT025, Microalgae residue, Carbon quantum dots, Doping, Oil accumulation, Oxidative stress.

目录

摘要.....	I
ABSTRACT	IV
第一章 绪论.....	1
1.1 微藻资源化利用	1
1.1.1 微藻资源化涉及领域.....	1
1.1.2 藻类生物质残渣处理.....	2
1.2 微藻生长及代谢的影响因子	3
1.2.1 物质因素对微藻的影响.....	3
1.2.2 环境因素对微藻的影响.....	4
1.3 碳量子点（CQDs）合成及应用	5
1.3.1 CQDs 的合成.....	5
1.3.2 CQDs 的应用	7
1.4 CQDs 在微藻领域的发展	9
1.4.1 微藻基 CQDs 的合成.....	9
1.4.2 CQDs 对微藻的影响.....	10
1.5 研究意义、内容与技术路线.....	11
1.5.1 研究意义	11
1.5.2 研究内容	11
1.5.3 技术路线.....	12
第二章 微藻基碳量子点的制备、发射光掺杂调节及表征	13
2.1 引言	13
2.2 试验材料与仪器	13
2.3 试验方法	13
2.3.1 藻渣提取.....	14
2.3.2 微藻基 CQDs 的制备	14
2.3.3 掺杂与工艺优化.....	14

2.3.4 微藻基 CQDs 的光学及形貌表征检测	15
2.3.5 数据分析	15
2.4 结果与讨论	16
2.4.1 微藻基 CQDs 水溶液及其荧光效果	16
2.4.2 微藻基 CQDs 光学表征分析	17
2.4.3 微藻基 CQDs 形貌表征分析	23
2.4.4 微藻基 CQDs 的 Zeta 电位	26
2.4.5 外源物掺杂比例优化	27
2.5 本章小结	28
第三章 微藻基 CQDs 对微藻生长及产油的影响	30
3.1 引言	30
3.2 试验材料与仪器	30
3.3 试验方法	30
3.3.1 小球藻培养	30
3.3.2 叶绿素含量测定	31
3.3.3 油脂含量测定	31
3.3.4 脂肪酸组分分析	31
3.3.5 数据分析	32
3.4 结果与讨论	32
3.4.1 不同浓度微藻基 CQDs 对小球藻叶绿素含量、细胞干重以及油脂 含量的影响	32
3.4.2 不同光照强度下微藻基 CQDs 对小球藻叶绿素含量、细胞干重以 及油脂含量的影响	38
3.4.3 微藻基 CQDs 对小球藻脂肪酸组分的影响	41
3.5 本章小结	44
第四章 微藻响应微藻基 CQDs 生理-分子机制研究	46
4.1 引言	46
4.2 试验材料与仪器	46

4.3 试验方法	46
4.3.1 小球藻培养	46
4.3.2 氧化应激水平测定	47
4.3.3 小球藻总 RNA 的提取检测与反转录	47
4.3.4 差异表达关键酶基因 RT-qPCR 检测	47
4.3.5 数据分析	48
4.4 结果与讨论	48
4.4.1 微藻基 CQDs 对小球藻抗氧化酶活的影响	48
4.4.2 总 RNA 的提取检测	50
4.4.3 差异表达关键酶基因 RT-qPCR 检测	50
4.5 本章小结	55
第五章 结论与展望	57
5.1 结论	57
5.2 展望	58
参考文献	59
附录	70
攻读学位期间发表的学术论文目录	72
致谢	73

第一章 绪论

1.1 微藻资源化利用

微藻是一种能够利用光、肥料、糖、二氧化碳和海水生长的微生物。光合效率高、环境适应性强，它们作为食品、饲料、能源和化学制品的原料具有极佳的潜力。且与农作物相比，微藻生长速度更快，具有更高的面积生产力，不需要肥沃的土地^[1]。常见的微藻包括蓝藻、绿藻、硅藻和金藻等，在生长过程中也产生大量高价值的天然产物，其中小球藻的富含叶绿素的微藻含有维生素、矿物质、蛋白质、多糖和氨基酸，具有极高的经济价值。

微藻通常通过利用其光自养能力来生长，其中细胞收集光能，使用 CO_2 作为碳源，并释放 O_2 作为副产物。在没有光照的条件下，异养培养可代替自养培养，使用有机碳例如糖、有机酸等做为碳源^[2]。混合营养结合了自养和异养代谢。在同一菌株中，两种营养模式的存在可以提高生物量的碳产量，最高可达 0.9 C-mol/C-mol 糖，是体积生物量生产力的两倍以上，并且在给定的光强下可以达到更高的细胞密度。

1.1.1 微藻资源化涉及领域

当前微藻在单细胞蛋白生产、油脂生产以及废水处理等领域发展迅速。在微藻单细胞蛋白领域，微藻通过卡尔文循环（Calvin 循环）将 CO_2 转化为 3-磷酸甘油醛进入各碳代谢途径。在光合自养过程中，微藻通过叶绿体中的光合色素捕获光能，驱动光系统 II 分解 H_2O 并释放 O_2 ，同时生成高能化合物 ATP 及电子载体 NADPH。这些产物随后参与 Calvin 循环，催化 CO_2 的固定与还原，最终合成碳水化合物等有机物质，为细胞增殖和代谢活动提供碳骨架与能量基础，微藻生长速率较快，其蛋白质量分数高达 70%，是单细胞蛋白的重要来源^[3]。微藻单细胞蛋白含有较多叶绿素、维生素和饱和脂肪酸（EPA、DHA），且核酸含量较低，具有生产功能性高蛋白食品的潜力。还可以根据生产需求选择不同的藻株，杜氏盐藻（*Dunaliella salina*）、雨生红球藻（*Haematococcus pluvialis*）等蛋白质含量较低，多用于生产类胡萝卜素、虾青素等高附加值产品^[4]。而在油脂生产领域中，最受关注的脂类是三酰基甘油（TAGs），它是棕榈

油的替代品, 以及 ω -3 长链多不饱和脂肪酸 (n3 LC - PUFAs), 如二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA), 它们是鱼油的替代品, 是水产养殖和人类营养中的必需脂肪酸^[5]。在微藻中, n3 LC-PUFAs 在生长过程中产生, 并在细胞中积累, 主要在质体膜中, 含量为干重的 2%-5%, 而 TAGs 在营养饥饿的情况下于脂质体中积累, 导致生长停滞, 脂质含量高达干重的 60%。n3 LC-PUFAs 面临的挑战是增加细胞生物量, 对于 TAGs 来说, 挑战则是在 TAG 积累过程中提高生长速度^[6]。最后, 在废水处理领域中, 微藻是利用营养物、光和 CO₂ 生长的光合生物, 可以吸收废水中富含的 C、N、P 等营养元素用于生物物质合成, 具有强大的吸附和降解能力。微藻在处理废水中重金属以及抗生素方面亦有较强的能力, 废水中常见的重金属包括锌 (Zn)、镍 (Ni)、砷 (As)、汞 (Hg)、铜 (Cu)、镉 (Cd)、铅 (Pb)、铬 (Cr) 和锰 (Mn) 等^[7]。微藻的细胞壁与重金属元素之间存在着极佳的亲和力, 使得重金属离子可以被微藻细胞吸收。对于废水中存在的抗生素, 微藻主要通过生物降解、生物积累和生物吸收的方法进行去除。微藻处理废水常于生产高附加值产物相结合, 同时满足废水有效净化与资源回收, 降低了废水处理的成本^[8], 例如有研究人员开发了一种新型的三室小球藻生物电化学反应器, 可以实现清洁培养小球藻和处理工业有机废水同时进行^[9]。

目前对于微藻涉及的各个领域而言, 所面临的主要挑战均在于低生物量浓度以及低体积生产力相关的高成本, 以及混合、脱气和收获培养物以避免高氧浓度抑制的高能量需求。

1.1.2 藻类生物质残渣处理

微藻生物领域发展迅速, 在提取完油脂、淀粉及其他高质提取物后藻类生物质残渣 (简称藻渣) 的处理问题随之而来, 脱除油脂后剩余藻渣量大, 一般得率占微藻生物质的 50% 以上, 造成由微藻原料制备液体燃料的成本高, 不具备经济性^[10]。目前诸多研究均设计藻渣的资源化利用, 以期达到降本增效的目的。贺等人通过热化学转化技术, 将微藻加工过程中产生的废弃藻渣转化为高附加值的功能性材料。研究团队采用定向化学修饰方法, 成功开发出一系列基于藻渣的新型非金属材料, 包括高效吸附剂、催化材料、超疏水薄膜、碳量子

点以及固态燃料等。这种创新性方法不仅实现了废弃藻渣的资源化利用，还显著提升了微藻副产物的经济价值^[11]。因藻渣中蛋白质和碳水化合物占比较大，Yang 等人利用厌氧发酵的方法将藻渣转化成为氢气和甲烷等能源产品，研究表明利用藻渣作为底物厌氧发酵制氢具有一定的可行性，发现其与酸碱、氯仿等接种物预处理方式相比，厌氧消化污泥热处理是富集产氢菌群的最有效的方法^[12]。此外，还有研究人员将藻渣研磨后过筛，然后采用高温管式炉热解，热解后过筛获得藻渣生物炭用于催化降解难降解有机污染物^[13]。

1.2 微藻生长及代谢的影响因子

微藻通过光合作用将光能和大气中的二氧化碳转化为生物质，同时吸收环境中的营养物质以支持其生长。其光合作用的产物主要以细胞结构组分或能量储存物质的形式积累。根据 Stumm 经验公式 ($C_{106}H_{263}O_{110}N_{16}P$)，微藻的生物质组成高度依赖于碳、氮、磷等关键元素的供应，这些营养物质的浓度直接影响微藻的生长速率和生物量积累^[14]。除了营养条件外，外部环境因素也对微藻的生长和代谢过程产生显著影响。这一化学计量关系表明，优化培养条件对于提高微藻的生物质产量具有重要意义。

1.2.1 物质因素对微藻的影响

碳元素是微藻细胞结构的关键组分，其含量通常超过细胞干重的 50%，并作为基本骨架参与细胞内各类物质的合成。微藻的碳源可分为无机和有机两类：前者主要包括大气中的二氧化碳以及水体中的碳酸盐（如 CO_3^{2-} 和 HCO_3^- ），这些碳酸盐的形态分布受 pH 值调控并保持动态平衡，微藻通过光合作用将其转化为生长所需的有机物；后者则通过异养代谢途径被微藻利用，用于合成细胞生长所需的各类物质^[15-16]。充足的碳源供应通常能够显著提高培养体系中的生物量浓度和生产力，但过高的碳源浓度（如过量 CO_2 ）可能引起培养液酸化，进而抑制微藻的正常生长^[17]。

氮源是微藻生长不可或缺的营养元素，参与蛋白质、叶绿素、ATP 及遗传物质等重要细胞成分的合成^[18]。微藻可利用的氮形态包括硝酸盐、尿素和铵盐，其中铵盐由于能够直接转化为氨基酸，利用效率最高^[19]。研究表明，氮限制会显著影响微藻的生长和代谢。例如，Tao 等人研究了氮限制对 *Chorococcum* sp.

和 *Scenedesmus* sp. 脂质合成的影响, 发现氮限制条件下, 两种微藻的脂质含量分别从 31.6% 和 48% 增加到 40.7% 和 54%, 但生物量产率从 0.40 g/(L·d) 和 0.48 g/(L·d) 分别降至 0.38 g/(L·d)^[20]。然而, 也有研究表明, 氮浓度的降低对某些微藻的细胞分裂影响不显著, 这表明不同微藻对氮元素的响应存在差异^[21]。

磷不仅是微藻细胞的重要组成部分, 还参与细胞信号转导、呼吸作用和光合作用等多种生理过程。在磷限制条件下 (0.1 mg/L), Xin 等人将 *Scenedesmus* sp. 的脂质含量提高至 53%, 但生物量显著降低至 0.13 g/L。此外, Fu 等人通过氮限制和磷过量相结合的方法, 在保持生物量稳定的同时, 将小球藻的脂质含量和产率分别提升至 42.3% 和 310.0 mg/(L·d)^[22-23]。这些研究表明, 磷浓度对微藻的影响与其他环境因素密切相关。

此外, 大量元素 (如 K、Ca、Na、S 等) 和微量元素 (如 Fe、Mn、Zn、Cu 等) 也对微藻生长具有重要影响。大量元素中, Na 和 K 在维持细胞渗透压中起关键作用, Ca 作为第二信使参与细胞信号传递, 而 S 是蛋白质的重要组成部分。微量元素则作为多种酶的活性中心, 维持细胞的高代谢活性, 是微藻细胞分裂和生长不可或缺的元素。这些营养元素的协同作用共同调控着微藻的生长、代谢和生物质合成^[24-25]。

1.2.2 环境因素对微藻的影响

光能是微藻进行光合作用并维持生长的核心能量来源, 同时也是调控其生长的重要环境因子。光照强度对微藻培养具有显著影响, 过低或过高的光强均无法使微藻达到最佳生物量。Mata 等人的研究表明, 在 12000 lx 的光照强度下, 微藻培养物的生物量产量达到最高, 而当光照强度进一步升高或降低时, 生物量均会减少^[26]。此外, 光周期也是影响微藻生物质生产的重要因素。Khoeyi 等人通过对比不同光周期对同一藻类菌株的培养效果, 发现 16 : 8 h (光照/黑暗) 的光周期能够显著提高微藻的生长速度和生物量产量^[27], 这一发现与多数研究结论相吻合, 证实该光照条件能够最大程度促进微藻的增殖。相关研究结果表明, 通过合理调控光照强度与光周期参数, 可显著提升微藻的生物量产出效率。除此之外, 光波长的选择也是影响微藻生长的重要因素。研究表明, 在可见光谱中, 蓝光波段和红光波段对微藻的生理活动具有显著的促进作用。蓝光能够

促进光合色素的合成，而红光则有助于提高光合作用效率，两者协同作用可显著提升微藻的生长性能^[28-29]。

其他环境因素如温度、pH 和盐度等也对微藻培养具有重要影响。温度主要通过调节酶的活性来影响微藻的生长，每种微藻都有其最适生长温度范围，温度过高或过低都会抑制细胞分裂等生理活动。大多数微藻的最适温度范围为 20-30 °C。适宜的 pH 值为微藻提供了良好的生长环境，通常在 pH 6-9 的范围内，微藻能够生长良好。研究表明，将 pH 控制在特定范围内可以使微藻的脂质含量提高至 50%左右。然而，pH 的升高可能导致培养基盐度增加，这对某些微藻细胞可能产生不利影响。因此，在实际培养过程中，需要综合考虑温度、pH 和盐度等因素，以实现微藻的高效培养和代谢产物的优化积累^[30-32]。

1.3 碳量子点（CQDs）合成及应用

当物质结构达到纳米级别时，其物理化学性质会发生显著变化，呈现出量子限域效应、尺寸效应、界面效应以及量子隧穿效应等独特现象^[33]。这些特性使得纳米材料展现出与传统宏观材料截然不同的性能特征，因而成为当前科学研究的热点领域。在众多纳米材料中，碳基纳米材料因其多样化的形貌结构、出色的导电性能、优异的生物相容性、稳定的化学特性以及巨大的比表面积等特点，在绿色纳米技术领域展现出巨大的发展潜力。这类材料在纳米电子器件、光学应用、催化反应、生物医药以及传感技术等多个前沿领域均具有重要的应用价值^[34-35]。

1.3.1 CQDs 的合成

CQDs 的合成策略主要可分为两种基本途径：自下而上合成法和自上而下制备法。其中，自下而上法是通过将小分子前驱体作为原料，经过一系列化学转化过程构建碳量子点结构。这种方法通过分子水平的组装实现纳米材料的可控合成，为碳量子点的制备提供了重要的技术路径。这种方法在理论上能够实现 CQDs 形貌的精确调控，并且便于对其表面和边界结构进行修饰。然而，自下而上法的制备步骤通常较为繁琐，且对设备要求较高。自上而下法则是通过物理或化学手段将大尺寸的二维碳基材料（如石墨烯薄片）切割成小尺寸的 CQDs。自上而下法因其操作相对简单且原料易得，成为当前 CQDs 制备的重要

研究方向。总体而言，两种方法各有优劣：自下而上法在形貌和表面修饰方面具有优势，但工艺复杂；自上而下法则以操作简便和原料易获取为特点，更适合大规模制备^[36-37]。具体合成方法众多，例如

(1) 水热合成法作为一种经济环保且无毒的制备工艺，在新型碳材料的合成中得到了广泛应用。该技术通过将有机原料置于高温高压的水热反应环境中，实现目标产物的高效制备。用于合成碳量子点（CQDs）的原料来源广泛，涵盖了壳聚糖、葡萄糖、柠檬酸、落叶松提取物、香蕉汁、柑橘类果汁以及蛋白质等多种天然物质^[38-39]。以 Mohapatra 研究团队的工作为例，他们开发了一种基于柑橘汁为原料的单步水热合成策略，成功制备了性能优异的碳量子点。所制备的 CQDs 具有高达 26% 的量子产率，尺寸分布在 1.5~4.5 nm 之间，因其优异的光稳定性和低毒性，被广泛应用于生物成像领域^[40]。此外，Liu 课题组开发了一种改进的水热法，通过在 180 °C 下反应 12 小时，成功制备了氨基化荧光 CQDs。这些 CQDs 无需进一步修饰即可直接用作高效的生物成像剂，展现了水热法在合成功能化碳材料中的巨大潜力^[41]。

(2) 微波法因其快速加热能力和对设备要求低、反应时间短的优势，成为制备 CQDs 的常用方法之一^[42]。Yang 研究团队开创性地采用此方法合成 CQDs。该方法以碳水化合物作为碳前驱体，将其分散于聚乙二醇（PEG-200）溶剂体系中，随后在微波反应器中完成加热过程。实验过程中观察到反应体系颜色逐渐加深，经水稀释后成功制得具有荧光特性的碳量子点，这一发现为碳量子点的制备提供了新的技术路径。研究发现，微波加热时间对 CQDs 的粒径和荧光性能有显著影响：加热 5 分钟时得到的 CQDs 平均粒径较小，量子产率仅为 3.1%，随着加热时间的延长，CQDs 粒径与荧光量子产率也逐渐提高，此外，实验表明，若反应中不加钝化剂 PEG-200，虽然仍能获得 CQDs，但其荧光性能明显减弱^[43]。例如 Pramanik 课题组采用 100 W 微波炉处理蔗糖与磷酸的混合液，微波加热 220 秒即可一步制备 CQDs。所制备的 CQDs 平均粒径为 3~10 nm，在紫外光激发下呈现绿色荧光，通过荧光素对 CQDs 进行表面功能化处理后，其荧光强度得到显著提升^[44]。尽管微波法具有操作简便、反应迅速的优点，但其制备的 CQDs 粒径分布不均匀，可控性较差。

(3) 超声波合成技术通过高频声波引发的空化效应, 在液相介质中形成周期性压力变化, 从而产生瞬时高能环境, 促进化学反应或实现物质破碎^[45]。基于这一机制, 科研人员研发了超声波法制备 CQDs 的工艺。如 Kang 研究团队以活性炭为原料, 加入过氧化氢溶液, 在 300 W 超声波设备中处理 120 min, 后过滤去除非荧光杂质后, 成功制备出尺寸为 5~10 nm 的 CQDs, 实验证实, 通过调整超声处理时间可实现 CQDs 粒径和形貌的有效调控^[46]。在进一步研究中, 该团队采用葡萄糖作为碳前驱体, 将其分散于去离子水中, 并加入 50 ml 氢氧化钠溶液或浓盐酸, 经过 4 小时超声处理后, 通过分离纯化获得粒径小于 5 nm 的 CQDs, 其荧光量子产率达到 7%。此外, Kang 课题组还分别以单壁碳纳米管、多壁碳纳米管和石墨为原料, 与硫酸和硝酸混合液 (体积比为 3:1) 混合, 经过 30 min 超声处理后, 在 80 °C 下回流反应 24 h, 最终通过过滤和透析等分离手段, 获得了粒径为 3~4 nm 的 CQDs^[47]。这三种 CQDs 表现出相似的光学特性: 在紫外-可见光区具有宽吸收峰; 在 460 nm 激发波长下, 其发射强度达到最大, 最佳发射波长为 535 nm; 在紫外光照射下, CQDs 呈现明亮的黄色荧光, 量子产率约为 3.6%^[48]。

(4) 溶剂热合成法是一种以有机溶剂为反应介质, 采用小分子有机物作为碳源, 在特定温度条件下制备碳量子点 CQDs 的技术^[49]。Li 课题组以蔗糖为前驱体, 油酸为溶剂, 通过溶剂热法在 5 分钟内快速制备了单分散的 CQDs, 该方法不仅操作简单, 还具有一定的普适性, 例如苯二胺、柠檬酸等其他前驱体也可通过类似方法成功制备 CQDs, 此外, 该方法制备的 CQDs 无需表面钝化处理, 其荧光量子产率高达 21.8%, 并表现出优异的光稳定性, 已成功应用于细胞成像领域^[50]。此外, 该团队还利用乙二胺和三氯甲烷体系, 通过调节加热回流时间制备了多色 CQDs, 并将其应用于 pH 传感领域^[51]。这种方法的优势在于能够精确控制 CQDs 的表面状态, 通过精心选择碳源分子和表面修饰剂的种类, 实现对 CQDs 形貌和物理性质的精准调控^[52]。

1.3.2 CQDs 的应用

作为一种新兴的零维纳米碳材料, CQDs 展现出优异的水溶性、生物相容性以及独特的光学特性。其优势包括高荧光强度、可调控的发射波长、显

著的双光子吸收效应、出色的光稳定性、无光闪烁现象、易于表面修饰、低成本以及可规模化制备等特点^[53]。这些特性使 CQDs 在生物医学成像、光电器件、催化反应以及化学传感等领域展现出巨大的应用潜力。

(1) 光电器件：CQDs 在作为光电器件展现了广泛的应用潜力，主要体现在以下四个方面：首先，在染料敏化太阳能电池中，CQDs 通过与染料和其他半导体材料的复合，能够显著提升光电转换效率，其效率提升范围可达两倍至七倍。这种高效的性能优化使 CQDs 成为太阳能电池材料研究的热点。其次，CQDs 复合材料具有发光下移特性，将其应用于有机太阳能电池中，可以增强电池对近紫外和蓝紫光区域的吸收能力，从而进一步提高太阳能利用率^[54]。此外，CQDs 的有效分散功能及其混合网络结构能够促进充放电过程中电荷的快速传输和离子运动，显著提升电池的充放电性能^[55]。第三，CQDs 作为导电剂和粘结剂应用于超级电容器中，能够有效改善其性能。CQDs 的高导电性和独特的纳米结构有助于提高电容器的能量密度和功率密度，为储能技术的发展提供了新的方向^[56]。最后，CQDs 在发光二极管（LED）中的应用也备受关注。CQDs 不仅发光稳定性高，而且成本较低、环保无公害。通过调整器件结构和注入电流密度，可以实现不同颜色的光发射，为柔性显示和照明领域提供了新的材料选择^[57]。

(2) 生物医学成像：CQDs 以其高生物相容性、低生物毒性和优异的光学性能，在荧光生物成像及多模态生物成像技术中展现出巨大的应用潜力。目前，最受欢迎的多模态成像探针通常结合磁共振成像（MRI）和光学成像技术^[58]。CQDs 被广泛应用于多种人体生物化学传感器中，用于检测葡萄糖、磷酸盐、过氧化氢、核酸等生物分子^[59]。此外，CQDs 的出现为医学治疗与生物成像诊断的结合提供了新的可能性。例如，将抗癌药物与含胺基的 CQDs 表面结合，可以制备多功能热反应剂。实验研究表明，这类药物不仅具有良好的生物相容性和光谱成像功能，还表现出显著的抗癌效果，通过实时监测药物荧光信号的变化，可以精确追踪药物在体内的分布和代谢动态，从而优化药物注射的时间和剂量，为个性化医疗提供有力支持^[60]。

(3) 催化剂：CQDs 在催化领域也展现出显著的应用潜力。在可再生能源

领域，电催化和光电化学析氢反应是关注重点。通过简单的水热反应方法，可以制备改性的 CQDs/TiO₂ 复合材料，这种材料在紫外光和可见光的照射下，能够显著提升光催化析氢反应的效率^[61]。此外，氧还原反应也是可再生能源工程中的重要催化过程。研究表明，氮掺杂的 CQDs 聚体在氢氧化钾溶液中表现出优异的电催化活性和稳定性，其催化性能和对甲醇及 CO 的耐受性甚至优于商业化的 Pt/C 催化剂^[62]。不仅如此，CQDs 在 C-C 键形成反应中也表现出高效的催化活性。实验证明，以 CQDs 为基础的催化剂在多次重复使用后，尽管可能发生一定的结构变化，但仍能保持较高的催化活性^[63]。这种可重复使用的特性使 CQDs 在绿色化学和可持续催化领域具有重要的应用前景。

(4) 化学传感：基于荧光碳量子点（CQDs）的光学响应特性，其发光强度会随环境化学或物理参数的变化而发生显著改变，这一特性使其能够作为高效的传感材料用于多种分析物的定量检测。研究表明，这类纳米材料可广泛应用于离子（如 Fe³⁺、Ag⁺）、小分子（如多巴胺）以及环境参数（如 pH 值）的监测，特别值得注意的是，以多巴胺为碳源合成的 CQDs 不仅表现出卓越的荧光性能，适用于细胞成像研究，还能作为特异性识别元件，实现对 Fe³⁺ 和多巴胺分子的高精度、高选择性检测，其检测原理基于 Fe³⁺ 能够将 CQDs 表面的对二酚基团氧化为醛类化合物，从而导致 CQDs 的荧光淬灭，而多巴胺则能够有效抑制这种荧光淬灭效应^[64-65]。这种基于 CQDs 的荧光传感技术为复杂环境中特定物质的检测提供了一种高效、灵敏的方法。

1.4 CQDs 在微藻领域的发展

CQDs 的合成具有使用低成本无毒的原材料、可再生资源、作简单、环境友好等优点。它可以利用生物质资源作为目标前体（例如，植物部位、水果、果汁、果皮、饮料、动物衍生物、人类衍生物、蔬菜、香料和天然聚合物），通过脱水、水热和微波、氧化和分解来转化纳米碳点^[66-67]。使得微藻同样可以作为 CQDs 合成的前体。同时绿色合成的 CQDs，具有无毒、低成本、易于合成等特点，加上其优异的生物相容性，使得其可以应用于微藻的培养体系当中。

1.4.1 微藻基 CQDs 的合成

以微藻为前驱体制备 CQDs 时，水热法是一种极为简便的制备方法。例如，有研究人员将螺旋藻、氨水和去离子水混合均匀后，在 160~240 °C 下反应 2~7 h，冷却至室温并过滤，随后对滤液进行透析和冻干处理，成功制备出螺旋藻 CQDs。这种 CQDs 具有粒径单一且分布均匀、水溶性和分散性优异的特点，能够高灵敏度地选择性识别水溶液中的 Pb^{2+} [68]。此外，还有研究人员通过醇热法将微藻与醇溶剂反应，得到混合物后离心分离，上层液体经旋转蒸发分离出醇相 CQDs（无色液体）和油相 CQDs（黑色粘稠固体），而下层固体则作为副产物生物焦。与其他生物质前驱体相比，微藻因其尺寸小、分散性好且无需破碎即可充分反应，同时其高含氮量有助于提高 CQDs 的产率。制备的藻基 CQDs 不仅具有优异的双光子荧光特性，还表现出低细胞毒性和高细胞吸收效率，在生物成像领域具有高对比度应用的潜力。醇热法相较于水热法，反应更加充分且 CQDs 产率更高，同时生成的双相 CQDs 具有不同的荧光激发和发射峰，在 365 nm 紫外光照射下分别呈现蓝光和红光，拓宽了其应用范围。此外，醇溶剂在反应过程中与微藻蛋白质分解产生的酸性物质发生酯化反应，降低了产物的酸性，减少了对设备的腐蚀，延长了设备使用寿命。与需要长时间透析和冷冻干燥的水热法相比，醇热法简化了分离纯化步骤，降低了工艺能耗和成本，展现出更高的经济性和实用性[69]。

1.4.2 CQDs 对微藻的影响

将 CQDs 应用到微藻的培养体系当中，一方面由于 CQDs 优异的光转换特性，可以用做高效补光器促进微藻的光合作用，另一方面 CQDs 做为纳米材料，能够影响微藻生长代谢速率与细胞内化合物积累，表现为微藻对碳氮有机物的利用提高，微藻细胞数提高与油脂产量增多[70-71]。微藻通常通过利用其光自养能力来生长，其中细胞收集光能，使用 CO_2 做为碳源，并释放 O_2 作为副产物。在没有光照的条件下，异样培养可代替自养培养，使用有机碳例如糖、有机酸等做为碳源。不同波长的光源对于微藻生物量积累以及产物含量影响较大，而 CQDs 恰巧具备优异的光转换能力。有研究者采用甲酰胺和柠檬酸作为原料，通过溶剂热合成法制备了平均粒径为 2.57 nm 的 CQDs，该材料具有类石墨结构的碳核结构，表面富含氨基和羟基等活性基团，能够吸收 500-600 nm 波段的可

见光，并将其转化为 580-700 nm 的红光，这一波长范围恰好处于微藻光合作用的最佳吸收区间^[72]。将 CQDs 应用于微藻培养的 LED 光转换系统后，经过 12 天的培养，微藻生物量提升了 15.6%，同时细胞内色素、碳水化合物、蛋白质和脂质的合成效率分别增加了 23.9%、29.0%、22.8%和 14.3%。其作用机制在于 CQDs 通过与胞外聚合物结合并附着于细胞表面，持续为微藻提供优化的光能输入。这种适宜的光照条件不仅增强了微藻的光合活性，还上调了光捕获复合物相关基因的表达，从而显著促进了微藻的光合效率与生物量积累^[73]。还有研究人员通过一步微波合成在 3 min 内制备了具有优异水溶性、良好生物相容性、高量子产率和优异稳定性的远红碳点。所制备的远红碳点是一种高效的转换器，将紫外光转换为 625-800 nm 远红外发射，可被叶绿体直接吸收和利用，可以在体内和体外实现增加的光合活性。通过用远红碳点包被叶绿体的体外杂交光合系统在 PS II（光系统 II）到 PS I（光系统 I）之间表现出更高的电子转移效率，从而增加了 ATP 的产生^[74]。

1.5 研究意义、内容与技术路线

1.5.1 研究意义

目前微藻主要研究领域包含 CO₂ 的固定、高价值化合物、生物燃料生产、废水处理，其中高价值化合物的制造逐渐优于环境应用领域，这种转变很可能是由于大规模微藻养殖成本较高。微藻培养物生物量较低对下游加工有相当大的影响。为了适当地专注于培养，降低与收获相关的额外成本，亟需开发了创新的、更高价值的生物质增值方法。此外随着微藻养殖规模的扩大，微藻藻渣的处理和利用同样需要开创新的出路。微藻绿色合成制备 CQDs 的可行性已经得到证实，同时 CQDs 对提高微藻生物量与油脂产量有着促进作用，利用 *Chlorella* sp. DT025 提取油脂后剩余藻渣制备出契合微藻生长代谢的荧光特性的 CQDs，探明此类碳点对微藻作用的机理。可为微藻的资源化利用提供一个可行的方向。

1.5.2 研究内容

（1）微藻基 CQDs 的制备、发射光掺杂调节及表征

利用 *Chlorella* sp. DT025 提取油脂后剩余藻渣水热合成制备微藻基 CQDs，

在水热合成过程中进行碳源或氮源等外源物的掺杂，并调整藻渣与掺杂物的比例，制备后进行光学、形貌表征以及 zeta 电位测定。以材料表征为依据，从而优化出最佳的工艺条件。

(2) 微藻基 CQDs 对微藻生长及产油的影响

将制备的微藻基 CQDs 添加到微藻的培养体系当中，设置不同的浓度梯度，检测微藻叶绿素含量，生物量以及油脂产量，探明其最适宜微藻生长的浓度。再扩大培养，设置不同的光照强度水平梯度，探明最适宜微藻基 CQDs 对微藻生产进行促进的光照强度。后续对微藻脂肪酸组分进行分析。

(3) 微藻响应微藻基 CQDs 生理-分子机制研究

选取针对微藻生物量抑或是代谢物即油脂产量提升较高的 CQDs，在不同光照强度下，检测微藻氧化应激水平的变化。提取经藻渣 CQDs 培养后微藻的 RNA，进行 RT-qPCR 检测油脂积累关键酶基因表达水平的变化，探究藻渣 CQDs 对于微藻生长及产油的作用机理。

1.5.3 技术路线

整体技术路线图如图 1-1 所示。

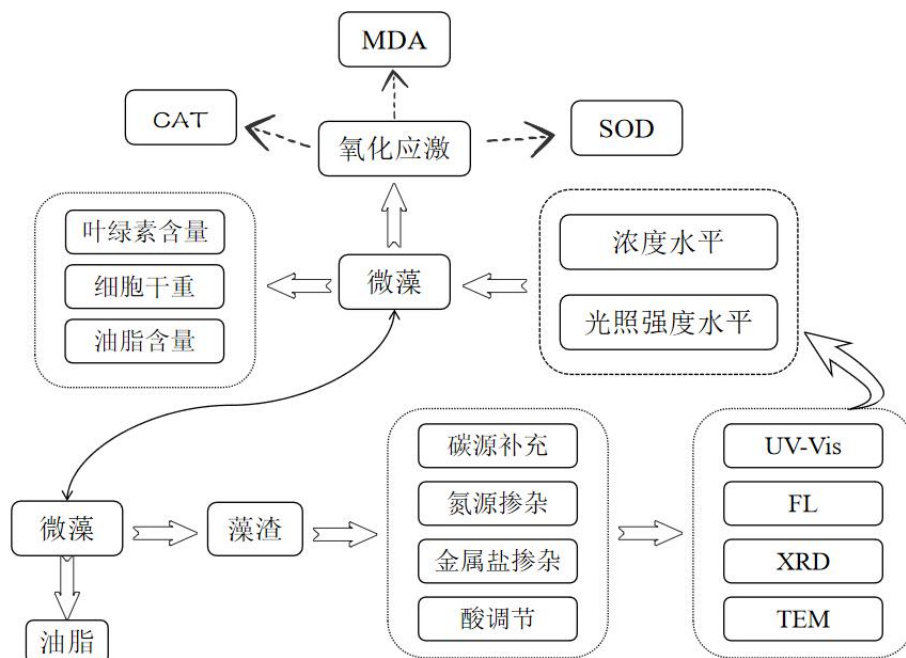


图 1 技术路线图

Fig. 1-1 Technology roadmap

第二章 微藻基碳量子点的制备、发射光掺杂调节及表征

2.1 引言

碳量子点（CQDs）是一种三维尺寸均小于 10 nm 的新型荧光碳纳米材料，因其具有高稳定性、良好的生物相容性和水分散性及优异的荧光效应而受到了研究者的广泛关注。CQDs 的光学性能包括其自身的吸光性能和发光性能。绝大多数 CQDs 在紫外区都有较强的吸收同时吸收尾延长到可见光范围，但不同方法制备的 CQDs 一般都表现为不同的吸收峰，这与各 CQDs 自身表面性质和发光性质有关。例如 N、S 等元素可在 CQDs 的制备过程中，改善其荧光特性。此外采用合适的酸以不同比例引入不同的官能团到 CQDs 结构中，可以钝化 CQDs 表面，减少缺陷，增强光学性能^[75-76]。

本章利用 *Chlorella* sp. DT025 提取油脂后剩余藻渣水热制备微藻基 CQDs，采用四种掺杂方案改善其荧光特性，分别为碳源补充、氮源掺杂、金属盐掺杂、酸调节，检测并分析紫外-可见吸收光谱（UV-Vis）和荧光光谱（FL）以期获得具备优秀光学性能的微藻基 CQDs，后进行 X 射线衍射（XRD）、透射电子显微镜（TEM）等全面表征，证明藻渣制备 CQDs 的可行性。

2.2 试验材料与仪器

试验用小球藻为保藏于安徽省工业微生物分子育种工程实验室的 *Chlorella* sp. DT025，分离于新疆塔里木盆地荒漠盐碱水域。

用于小球藻活化与培养的培养基为改良的 BG11 培养基（g/L）：葡萄糖 10 g，KNO₃ 1.25 g，KH₂PO₄ 1.25 g，MgSO₄·7H₂O 1 g，FeSO₄·7H₂O 0.05 g，CaCl₂·2H₂O 0.111 g，EDTA·2Na 0.5 g，MnCl₂·4H₂O 0.0142 g，Na₂MoO₄ 0.0071 g，CuSO₄·7H₂O 0.0157 g，CoSO₄ 0.001 g，NaHCO₃ 0.8 g，蒸馏水 1000 mL，pH 7.5~7.6，在 115 °C 条件下灭菌 20 min，固体培养基则在液体培养基中加入 15 g/L 的琼脂。

所用试剂、仪器见附录表 3-1、2。

2.3 试验方法

2.3.1 藻渣提取

将液体培养所得的 *Chlorella* sp. DT025 在 4500 rpm/min 下离心 20 min，用纯水洗涤两次，添加 4 mol/L 的盐酸煮沸 3-5 min，4 °C 冷却 20 min 后加入甲醇，完全混匀后加入三氯甲烷，再次混匀后于 4500 rpm/min 下离心 20 min^[77]，取中层固体，纯水洗涤，置于 60 °C 烘箱内待彻底烘干后移至干燥箱内降温，再进行研磨，使用 100 目筛网进行过筛。

2.3.2 微藻基 CQDs 的制备

取适量过筛后的藻渣粉末加入去离子水中，使用磁力搅拌器进行混匀，待固体成分完全分散于去离子水中，倒入反应釜置于烘箱中，初步反应温度为 180 °C，反应时间为 12 h。

水热完成后取出反应釜，待自然冷却降温后，将其内部溶液移至离心管中，以 8000 rpm/min，离心 20 min，而后使用 0.22 μm 的水系滤膜进行除菌过滤，再将过滤后的溶液使用 1000 Da 的透析膜于去离子水中进行 24 h 避光透析，每 6 h 换一次去离子水，透析完成后将内部溶液冻干成粉末^[78]，制备 M-CQDs。

2.3.3 掺杂与工艺优化

在微藻基 CQDs 的制备过程中进行不同外源物的掺杂，并进行掺杂比例优化，制备完成后进行紫外光谱与荧光光谱的检测，探究掺杂的可行性。

（1）碳源补充^[79]

进行水热反应前以藻渣与柠檬酸的质量比为 3：1、2：1、1：1、1：2 添加柠檬酸做为补充，制备 C-CQDs。

（2）氮源掺杂^[80-81]

进行水热反应前以藻渣与尿素的质量比为 3：1、2：1、1：1、1：2 添加尿素进行氮源掺杂，制备 N-CQDs。

进行水热反应前将去离子水替换为 5%、10%与 15%的氨水，进行氮源掺杂，制备 NH-CQDs。

（3）金属盐掺杂^[82-83]

进行水热反应前加入适量硫酸镁，制备 Mg-CQDs。

进行水热反应前加入适量硫化银，制备 Ag-CQDs。

（4）酸调节^[84-85]

进行水热反应前将去离子水替换为 5%、10%、15%与 20%的硫酸，进行酸调节，制备 S-CQDs。

进行水热反应前以藻渣与醋酸的质量比为 2: 1、1: 1、1: 2，添加醋酸进行酸调节，制备 H-CQDs。

采用醇热反应，以藻渣与醋酸的质量比为 2: 1、1: 1、1: 2，添加醋酸进行酸调节，制备 HC-CQDs。

2.3.4 微藻基 CQDs 的光学及形貌表征检测

使用型号为 UV-2600 (Shimadzu, 日本) 的液体紫外可见吸收光谱仪，测量扫描范围为 200-700 nm 对微藻基 CQDs 的紫外吸收光谱进行测量。

使用 F-7100 型荧光光谱仪 (Hitachi, 日本)，激发狭缝与发射狭缝均设置为 5 nm，PMT 电压为 600 V 分析微藻基 CQDs 的荧光光谱。

取 20 mg 微藻基 CQDs 粉末，在型号为 Bruker D8 Advance XRD (Bruker, 德国) 的仪器上，使用 Cu K α ，以 2θ 从 10°到 50°范围进行扫描，检测其 X 衍射图谱

取少量微藻基 CQDs 溶液滴于超薄铜网上，待自然晾干，使用 Tecnai G2 F30 S-TWIN (FEI, 美国) 场发射透射电子显微镜 (FE-TEM)，加速电压设置为 200 kV，对样品的表面形貌情况进行表征。

使用 Nicolet iS10 型红外光谱 (Nicolet, 美国) 对微藻基 CQDs 表面官能团进行表征。将微藻基 CQDs 粉末与 KBr 以 1:100 碾磨混合，通过 KBr 压片法进行红外表征，波数范围是 400-4000 cm^{-1} ，光谱仪分辨率 4 cm^{-1} ，信噪比为 50000:1，扫描次数为 64 次。

2.3.5 数据分析

使用 Gatan DigitalMicrograph 与 Nano Measurer 检测 CQDs 晶格纹间距与粒度分析，使用 Excel 2021 进行实验数据的整合与处理，使用 IBM SPSS Statistics 与 Origin 2021 进行数据的显著性差异分析及图表绘制，组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA)，以 Duncan 检验确定结果之间的显著差异，其置信水平设置为 95% ($p < 0.05$)。

2.4 结果与讨论

2.4.1 微藻基 CQDs 水溶液及其荧光效果

小球藻藻渣具有丰富的碳源与杂原子（N、O、P 等），且具备多孔结构，是合成 CQDs 的优秀前体，本研究主体采用水热法一步合成制备微藻基 CQDs，将废弃物高值化与绿色化学结合，在降低成本的同时赋予材料优异的性能。图 2-1 展示了微藻基 CQDs 的合成流程。



图 2-1 微藻基 CQDs 合成路线图

Fig. 2-1 Roadmap for the synthesis of microalgae-based CQDs

图 2-2 展示了采用 2.3.2 与 2.3.3 所述方法合成的各类微藻基 CQDs 水溶液，以及其在紫外光与紫光照射下呈现的荧光效果。纯藻渣制备的 M-CQDs 水溶液在紫外光的照射下呈现绿色荧光。经柠檬酸掺杂制备的 C-CQDs 水溶液相对澄清，在紫外光下呈现蓝色荧光。采取氮掺杂方案制备的 N-CQDs 与 NH-CQDs，其水溶液较为浑浊，荧光效果较差，采取金属盐掺杂方案制备的 Mg-CQDs 与 Ag-CQDs 水溶液中出现沉淀，且难以通过透析去除。最后由酸调节方案制备的 S-CQDs 与 H-CQDs 与 HC-CQDs，在紫色光的照射下均呈现红色荧光。

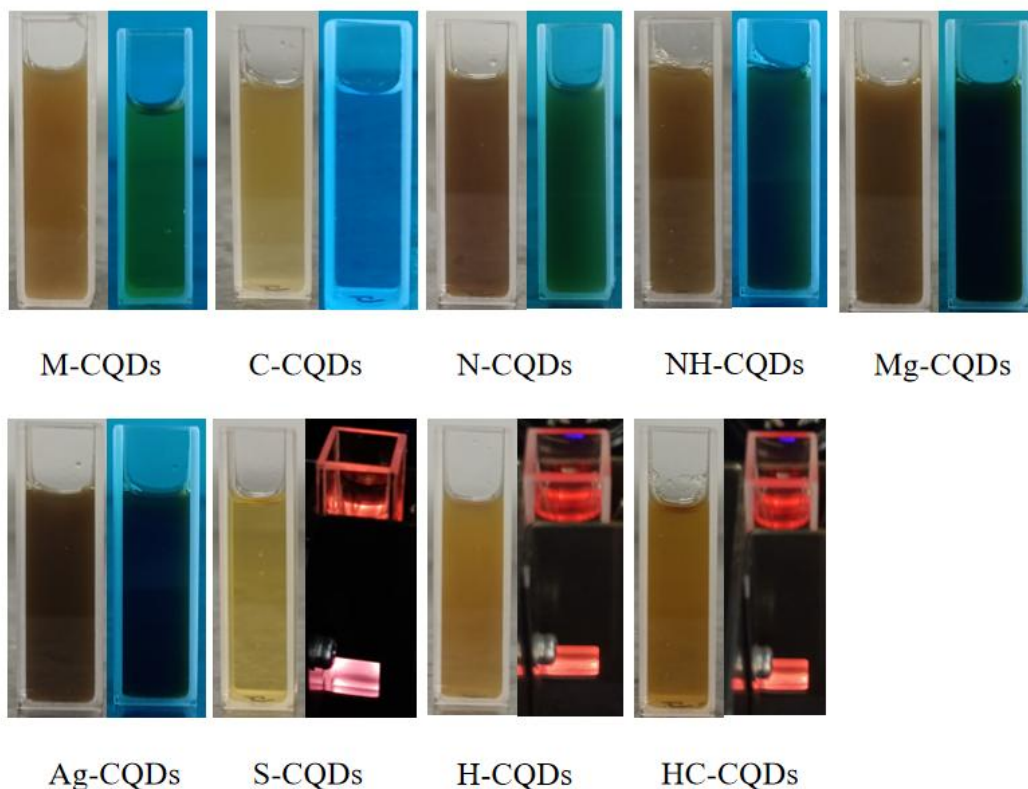


图 2-2 微藻基 CQDs 水溶液及其荧光效果图

Fig 2-2 Aqueous solution of microalgae-based CQDs and its fluorescence effect

2.4.2 微藻基 CQDs 光学表征分析

按照 2.3.4 节所述方法对合成的 CQDs 进行了光学相关表征, 通过 UV-Vis (图 2-3 a) 与 FL (图 2-3 b) 对 M-CQDs 的光学性质进行了分析, 合成的 M-CQDs 表现出优异的水溶性, 其水溶液在 270 nm 附近出现肩峰, 这一特征与 CQDs 的典型紫外吸收特性相符^[86]。进一步通过荧光光谱分析发现, M-CQDs 的最佳激发波长为 443 nm, 最佳发射波长为 534 nm, Stokes 位移为 91 nm, 表明其具有显著的荧光特性。此外, M-CQDs 展现出典型的激发波长依赖性发射行为, 即随着激发波长的变化, 其发射峰位置和强度也随之改变^[87]。这些结果不仅验证了 M-CQDs 的光学性能, 还证实了以藻渣为原料制备 CQDs 的可行性, 为藻类生物物质的高值化利用提供了新的思路。

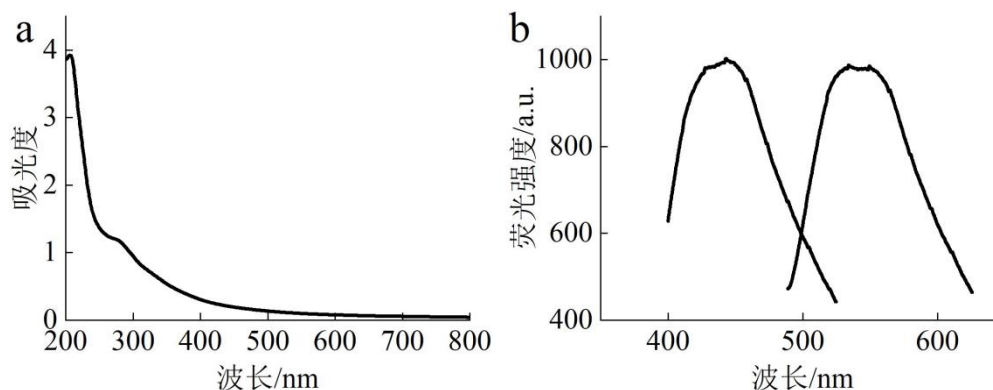


图 2-3 M-CQDs 的紫外与荧光图谱

Fig. 2-3 Ultraviolet and fluorescence spectra of M-CQDs

如 C-CQDs 的 UV-Vis (图 2-4 a) 所示, 当柠檬酸作为碳源补充到藻渣合成 CQDs 的体系中后, 270 nm 处的吸收峰强度显著增加, 表明柠檬酸的引入显著提高了藻渣制备 CQDs 的成功率和效率。此外, 在 400 nm 处出现了一个额外的吸收峰, 这可能是由于柠檬酸分子中富含的羧基官能团在 CQDs 表面富集, 形成了新的表面态或电子跃迁能级, 从而导致了该吸收峰的出现^[88]。这一现象进一步证实了柠檬酸在 CQDs 合成过程中对表面化学性质的调控作用。

从 C-CQDs 的 FL (图 2-4 b) 可以看出, 其最佳激发波长为 362 nm, 最佳发射波长为 428 nm, Stokes 位移为 66 nm。与 M-CQDs 相比, C-CQDs 的荧光强度提高了 224.21%, 这可能是由于柠檬酸的引入优化了 CQDs 的表面态和电子结构, 减少了非辐射复合, 从而增强了荧光发射效率^[89]。此外, C-CQDs 的激发波长依赖性发射行为表明其具有典型的碳量子点光学特性。这些结果不仅证明了柠檬酸在 CQDs 合成中的重要作用, 还为藻渣与柠檬酸复合制备高性能 CQDs 提供了实验依据, 进一步拓展了藻类生物质资源的高值化利用途径。

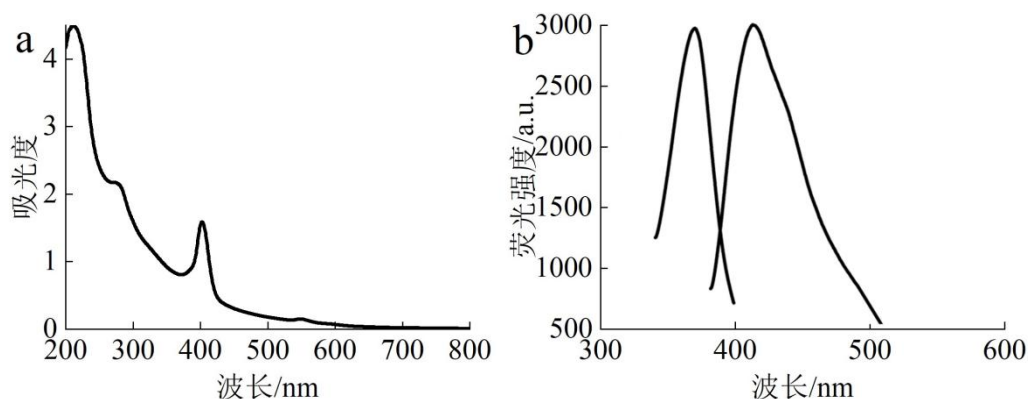


图 2-4 C-CQDs 的紫外与荧光图谱

Fig. 2-4 Ultraviolet and fluorescence spectra of C-CQDs

经过氮源掺杂后，N-CQDs 与 NH-CQDs 的 UV-Vis 如图 2-5 a,b 所示。与未掺杂氮源的 CQDs 相比，N-CQDs 与 NH-CQDs 在 270 nm 处的吸收峰几乎消失，这可能是因为藻渣中的碳源含量不足，导致在氮源掺杂过程中碳骨架的形成受到抑制，从而影响了碳量子点的合成效率。此外，氮源的引入可能改变了 CQDs 的表面化学结构和电子能级分布，进一步削弱了其在紫外区域的吸收特性^[90]。

值得注意的是，N-CQDs 与 NH-CQDs 的水溶液在可见光范围内未表现出明显的荧光发射（图 2-5 c,d），这表明氮源掺杂并未有效调节或增强 CQDs 的荧光性能。这一现象可能与藻渣本身的化学成分和结构特性有关，说明藻渣作为碳源在氮源掺杂体系中并不适合用于调控 CQDs 的荧光特性。可能的原因包括藻渣中碳源与氮源的比例失衡，或者氮源掺杂过程中引入了过多的表面缺陷，导致非辐射复合增加，从而抑制了荧光发射。虽然氮源掺杂在碳量子点合成中通常被用于调控其光学性能，但在以藻渣为碳源的体系中，氮源掺杂并未达到预期效果。

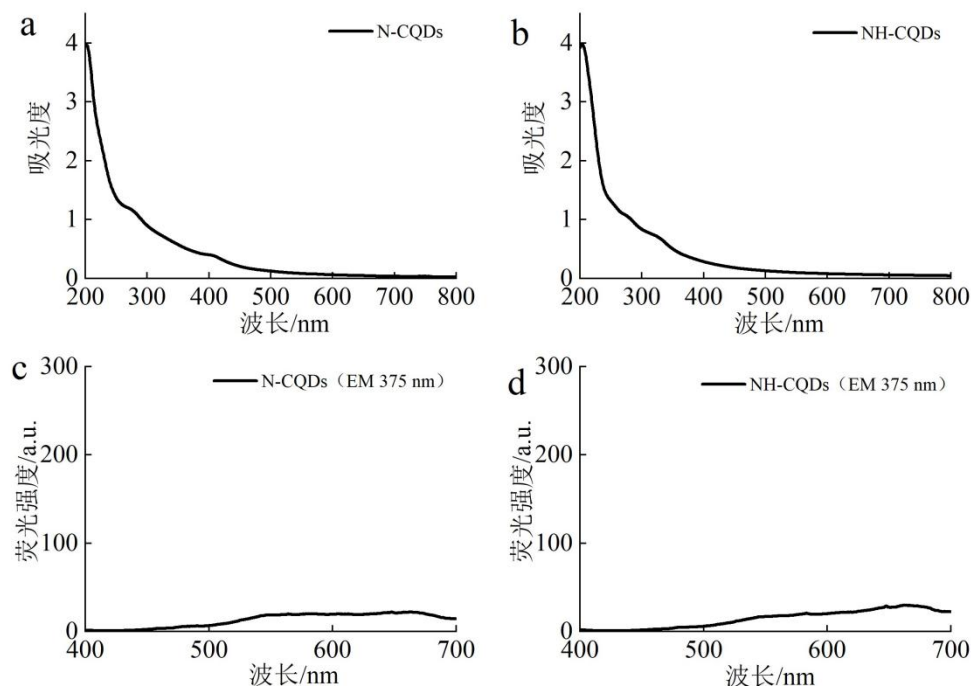


图 2-5 N-CQDs 与 NH-CQDs 的紫外与荧光图谱

Fig. 2-5 Ultraviolet and fluorescence spectra of N-CQDs and NH-CQDs

在采用金属盐（镁盐和银盐）掺杂藻渣制备 CQDs 的过程中，试验观察到生成了大量杂质，这些杂质显著影响了 CQDs 的成型和纯化。具体表现为，Mg-CQDs 与 Ag-CQDs 的水溶液中存在大量沉淀，表明金属盐的引入可能导致了副反应的发生或碳源的不完全转化。通过 UV-Vis（图 2-6 a, b）分析，Mg-CQDs 与 Ag-CQDs 在 300 nm 附近出现了吸收峰，但溶剂峰几乎完全消失，这一现象表明碳量子点的合成过程未能成功完成。

这种合成失败的原因可能与藻渣的复杂化学成分密切相关。藻渣中含有多种有机物和无机物，这些成分在金属盐存在下可能发生复杂的化学反应，干扰了碳量子点的形成^[9]。例如，金属盐可能与藻渣中的某些组分发生沉淀反应，或者金属离子在高温条件下催化了不必要的副反应，从而阻碍了碳量子点的有效合成。此外，金属盐的引入可能改变了反应体系的 pH 值或离子强度，进一步影响了碳量子点的成核和生长过程。这一结果表明，在以藻渣为碳源的体系中，金属盐掺杂可能并不是一种有效的改性方法。

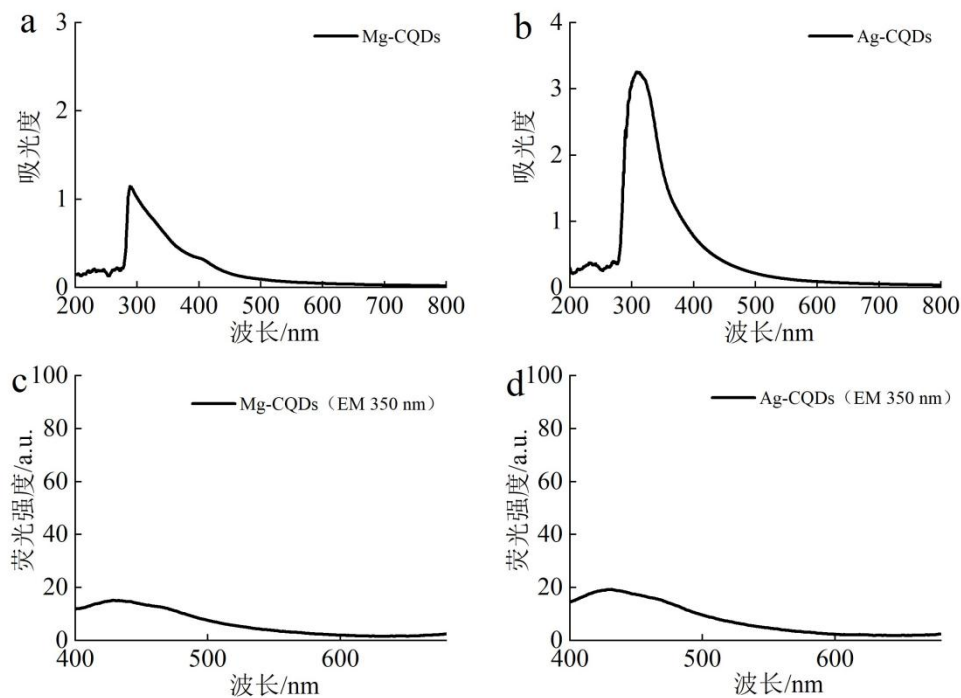


图 2-6 Mg-CQDs 与 Ag-CQDs 的紫外与荧光图谱

Fig. 2-6 Ultraviolet and fluorescence spectra of Mg-CQDs and Ag-CQDs

图 2-7 展示了硫酸掺杂后 S-CQDs 的 UV-Vis 和 FL。通过紫外图谱可以看出，S-CQDs 在 400 nm 处出现了一个额外的吸收峰，这一现象表明硫酸的引入导致 CQDs 表面聚集了新的官能团（如磺酸基团或硫酸酯基团），这些官能团可能改变了 CQDs 的电子结构和表面化学性质，从而在长波长区域产生了新的吸收特性^[92]。

在荧光光谱分析中，S-CQDs 表现出显著的光学性能变化。其最佳激发波长为 400 nm，最佳发射波长为 653 nm，Stokes 位移达到 253 nm，表明其荧光发射位于可见红光范围。此外，S-CQDs 在 600 nm 处还表现出次佳激发波长，进一步证实了其荧光特性的改变。与 M-CQDs 相比，S-CQDs 摆脱了传统的激发波长依赖性发射特性，表明硫酸掺杂显著优化了 CQDs 的能级结构和表面态分布。更重要的是，S-CQDs 的荧光强度提高了 19.39%，这可能是由于硫酸掺杂减少了非辐射复合过程，同时增强了辐射复合效率。

这些结果表明，硫酸掺杂不仅成功调控了 CQDs 的表面化学性质，还显著改善了其光学性能，尤其是在红光区域的荧光发射特性。

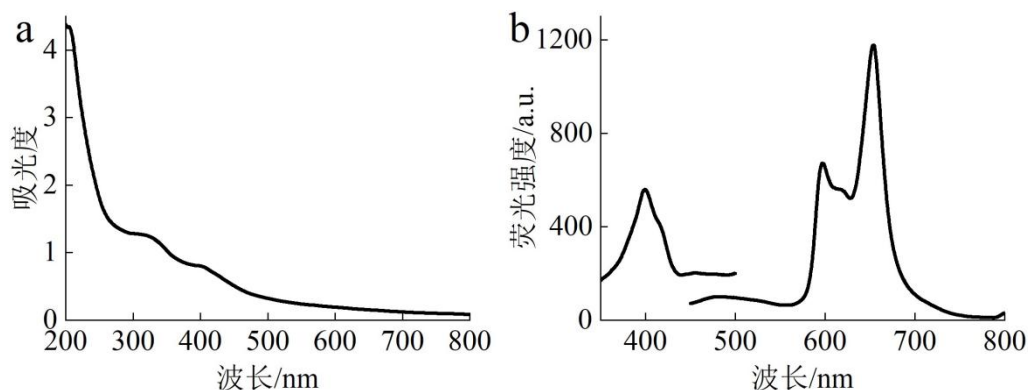


图 2-7 S-CQDs 的紫外图谱与荧光图谱

Fig. 2-7 Ultraviolet and fluorescence spectra of S-CQDs

H-CQDs 与 HC-CQDs 的 UV-Vis 如图 2-8 a, b 所示。从图中可以看出, 两种 CQDs 在 270 nm 附近均出现了明显的肩峰, 这一特征与 CQDs 的典型紫外吸收特性相符, 表明成功合成了具有 π - π^* 跃迁特征的 CQDs。值得注意的是, HC-CQDs 的吸收峰强度显著高于 H-CQDs, 这可能是由于醇热法在合成过程中有效避免了藻渣本身复杂成分的干扰。图 2-8 c, d 为 H-CQDs 与 HC-CQDs 在激发光为 415 nm 下的荧光发射图谱, 两者最佳发射波长均在 700 nm, 而 HC-CQDs 的荧光强度略高于 H-CQDs。藻渣作为一种生物质原料, 其化学成分复杂, 可能包含多糖、蛋白质、脂类等多种有机物, 这些成分在水热法中容易发生副反应, 从而影响 CQDs 的合成效率。而醇热法通过使用有机溶剂作为反应介质, 能够在一定程度上减少藻渣中复杂成分的溶解和反应, 从而更高效地促进碳源向 CQDs 的转化。提高了 CQDs 的制备效率和质量。此外醇热法还可能优化了 CQDs 的表面化学结构和电子能级分布^[93-94]。

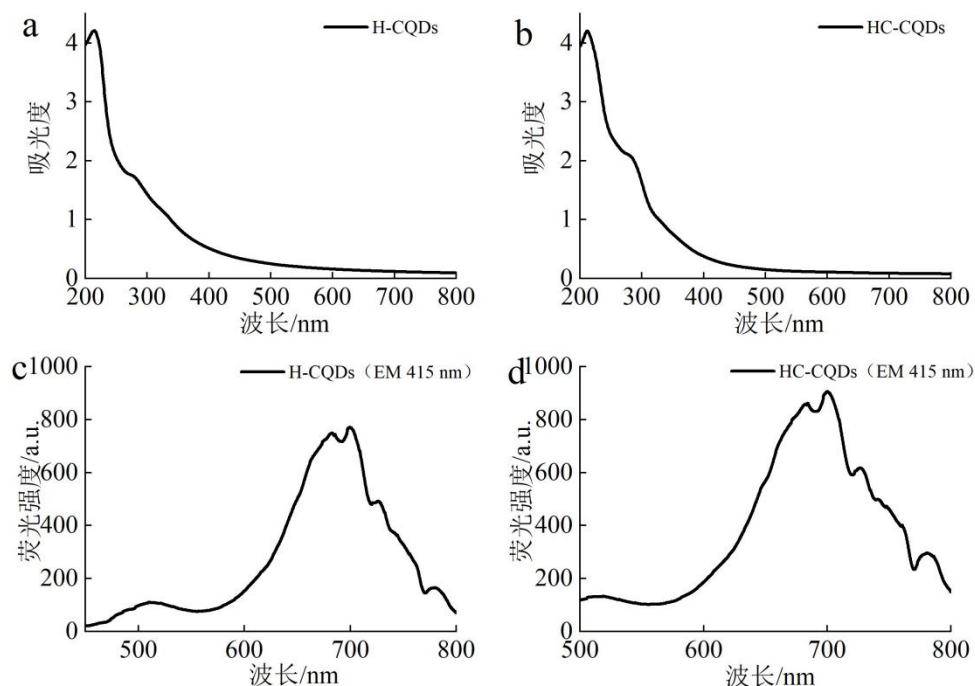


图 2-8 H-CQDs 和 HC-CQDs 的紫外与荧光图谱

Fig. 2-8 Ultraviolet and fluorescence spectra of H-CQDs and HC-CQDs

2.4.3 微藻基 CQDs 形貌表征分析

针对 2.4.1 节中成功制备的五种 CQDs，包括 M-CQDs、C-CQDs、S-CQDs、H-CQDs 和 HC-CQDs，对其进行了 XRD 和 TEM 形貌以及红外表征，以进一步分析其结构和形貌特性。

通过 XRD (图 2-9) 可以看出，上述五种 CQDs 均表现出典型的非晶态特征，其衍射图谱在 $2\theta=22^\circ$ 附近出现了一个宽峰。这一宽峰归属于石墨碳的 (002) 晶格平面衍射，证实了这些 CQDs 材料中具有一定的石墨化结构^[95]。

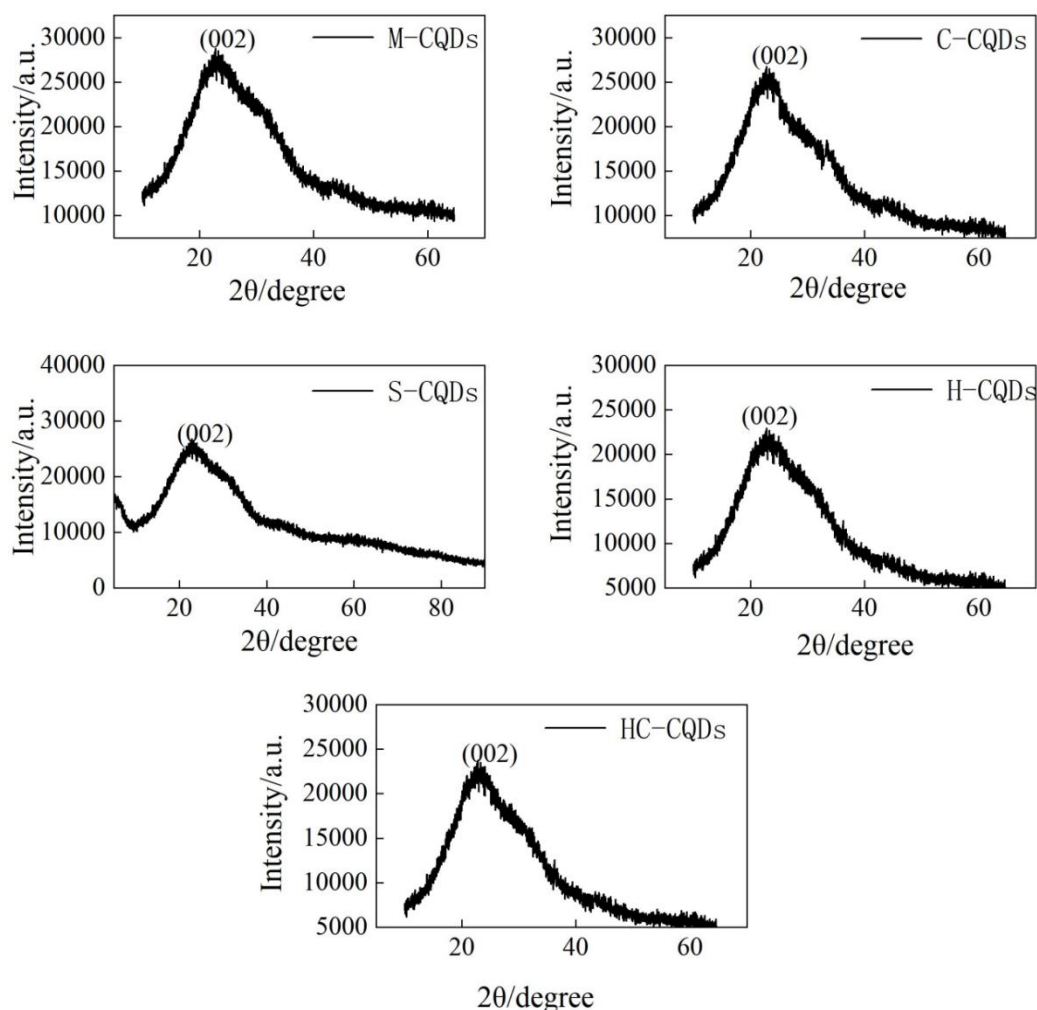


图 2-9 微藻基 CQDs 的 XRD 衍射图谱

Fig. 2-9 XRD diffraction pattern of microalgae-based CQDs

进一步通过 TEM 图像（图 2-10）观察发现，所有制备的 CQDs 均呈现规则的球形形貌，尺寸分布均匀，分散性良好，表明合成过程中 CQDs 的成核和生长得到了有效控制。高分辨率 TEM（HR-TEM）图像显示，CQDs 的晶格条纹间距为 0.21 nm，这一数值与石墨碳的（100）晶面间距相符，进一步证实了 CQDs 中石墨化结构的存在^[96]。

在粒径分布方面，M-CQDs 的平均直径为 2.31 ± 0.02 nm，C-CQDs 的平均直径为 2.34 ± 0.04 nm，S-CQDs 的平均直径为 2.72 ± 0.02 nm，而 H-CQDs 和 HC-CQDs 的平均直径分别为 2.31 ± 0.02 nm 和 2.33 ± 0.04 nm。可以看出，除 S-CQDs 外，其余四种 CQDs 的粒径非常接近，均在 2.3 nm 左右，表明这些 CQDs 的合成条件较为稳定，粒径控制较为一致。相比之下，S-CQDs 的粒径略大，可能是

由于硫酸掺杂过程中引入了额外的官能团或表面修饰，导致 CQDs 的尺寸略有增加。

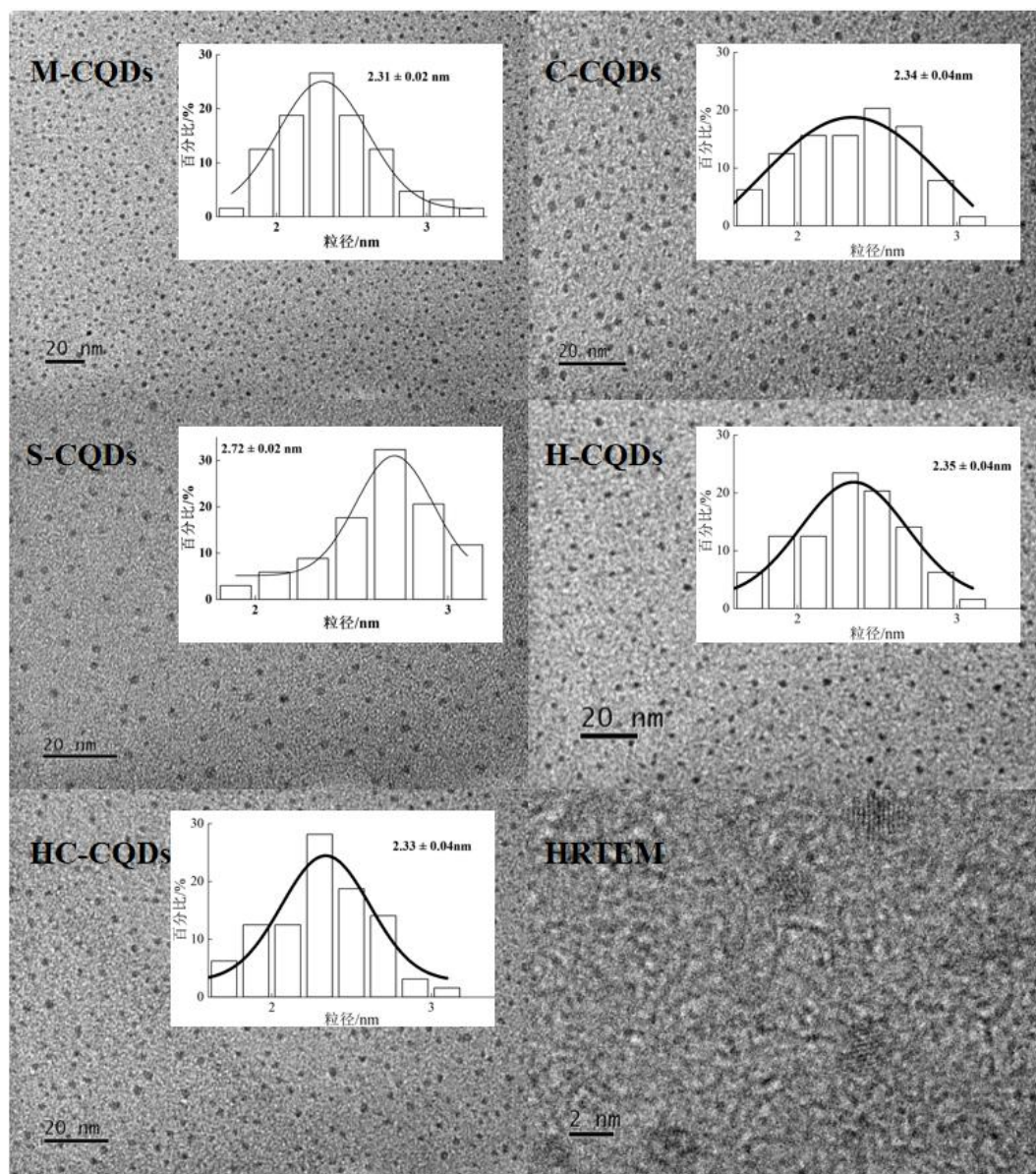


图 2-10 微藻基 CQDs 的 TEM 图及粒径直方图

Fig. 2-10 TEM and particle size histograms of microalgae-based CQDs

红外光谱分析（图 2-11）揭示了微藻基 CQDs 表面丰富的官能团信息。谱图中出现的多个特征吸收峰对应于不同化学键的振动模式，包括拉伸振动和弯曲振动。具体而言，各类微藻基 CQDs 在 3424 cm^{-1} 处观察到一个宽而强的吸收带，这归因于 O-H 键的伸缩振动，表明样品表面存在大量羟基（-OH）官能团。 2963 cm^{-1} 处的特征峰则对应于 C-H 键的对称和不对称伸缩振动模式，反映了样品中 C-H 键的存在。在 1634 cm^{-1} 处出现的尖锐吸收峰可归因于 C=O 键的伸缩

振动，同时也可能包含 C=C 双键的贡献，这表明样品中存在羧基（-COOH）或羰基（C=O）结构。此外，除 C-CQDs 外，其余微藻基 CQDs 在 1404 cm^{-1} 处的吸收带则对应于 C-N 键的伸缩振动，暗示着样品中可能存在含氮官能团。

这些特征吸收峰的出现表明，微藻基 CQDs 表面富含羟基、羧基等亲水性官能团。这些极性基团的存在不仅赋予了 CQDs 良好的水溶性，还通过表面电荷作用增强了其在水溶液中的胶体稳定性。

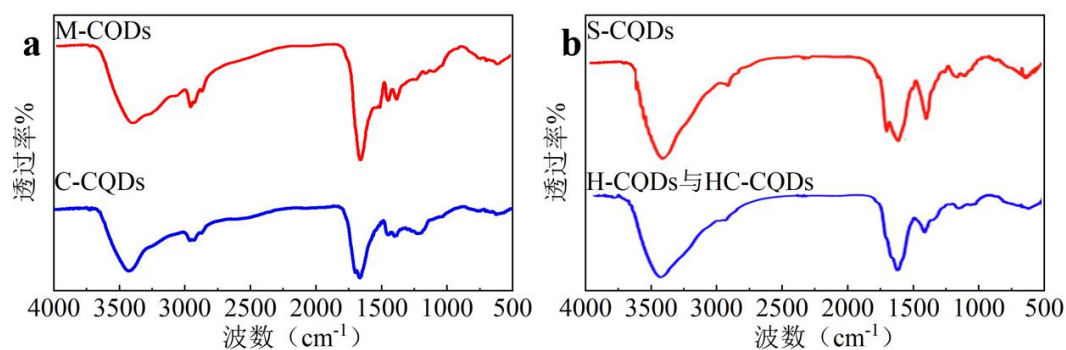


图 2-11 微藻基 CQDs 的 FTIR 光谱

Fig. 2-11 FTIR spectra of microalgae-based CQDs

2.4.4 微藻基 CQDs 的 Zeta 电位

图 2-12 展示了微藻基 CQDs 的 Zeta 电位测定结果。M-CQDs 的 Zeta 电位值为 -29.97 mV ，表明其表面带有中等强度的负电荷，这主要归因于水热合成过程中形成的羟基（-OH）和羧基（-COOH）官能团。Zeta 电位绝对值接近 30 mV ，说明 M-CQDs 在水溶液中具有较好的分散稳定性，颗粒间存在一定的静电排斥力，能够有效防止团聚。

C-CQDs 的 Zeta 电位值为 -39.39 mV ，与 M-CQDs 相比显著降低（更负），表明柠檬酸掺杂成功引入了更多的羧基（-COOH）官能团。Zeta 电位绝对值大于 30 mV ，说明 C-CQDs 在水溶液中具有优异的分散稳定性，颗粒间静电排斥力较强，不易发生团聚。这种高负电荷特性可能使 C-CQDs 在生物医学应用中表现出更好的胶体稳定性和生物相容性。

S-CQDs 的 Zeta 电位值是五种 CQDs 中最低的（最负），为 -43.35 mV ，表明硫酸掺杂成功引入了强酸性的磺酸基（-SO₃H）官能团。磺酸基的电离能力比羧基更强，导致表面负电荷密度更高。Zeta 电位绝对值远大于 30 mV ，说明 S-CQDs 在水溶液中具有极高的分散稳定性，适合用于需要长期稳定性的应用场

景。

H-CQDs 的 Zeta 电位为-34.16 mV，介于 M-CQDs 和 C-CQDs 之间，表明醋酸掺杂引入了少量羧基（-COOH），但数量不及柠檬酸掺杂。Zeta 电位绝对值略高于 30 mV，说明 H-CQDs 在水溶液中具有较好的分散稳定性，同时其适中的负电荷特性可能在某些应用中表现出更好的平衡性。

HC-CQDs 的 Zeta 电位仅有-20.55 mV，是五种 CQDs 中最接近零的值，表明其表面负电荷密度较低。这可能是因为醇热反应环境减少了表面氧化程度，导致含氧官能团（如羧基和羟基）数量较少。Zeta 电位绝对值低于 30 mV，说明 HC-CQDs 在水溶液中的分散稳定性相对较差，颗粒间可能更容易发生团聚。这种特性可能限制了 HC-CQDs 在某些高稳定性要求的应用中的使用。

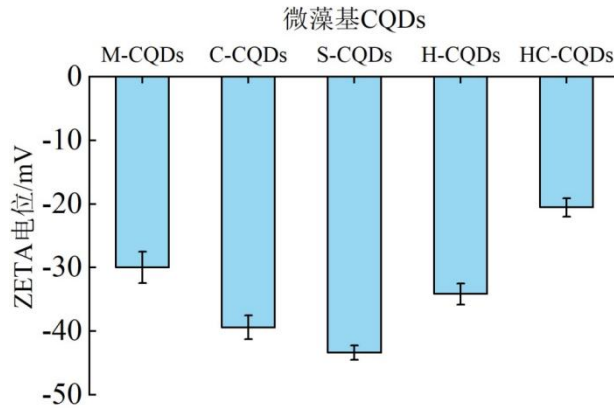


图 2-12 微藻基 CQDs 的 Zeta 电位图

Fig. 2-12 Zeta potential map of microalgae-based CQDs

2.4.5 外源物掺杂比例优化

图 2-13 展示了不同掺杂比例下各类 CQDs 的最大荧光强度变化趋势，通过折线图可以直观地分析出各类 CQDs 的最佳掺杂比例。首先，对于 C-CQDs，当藻渣与柠檬酸的质量比为 1:1 时，荧光强度达到最大值，表明这一比例为 C-CQDs 的最适掺杂条件。其次，对于 S-CQDs，当硫酸的体积浓度为 10% 时，荧光强度达到峰值。这一结果表明，适量的硫酸掺杂能够有效调控 CQDs 的电子结构和表面态，从而显著提升其荧光性能。然而，过高的硫酸浓度可能导致 CQDs 表面缺陷增加，反而抑制荧光发射。最后，对于 H-CQDs 和 HC-CQDs，两者的最适掺杂比例均为藻渣与醋酸的质量比 1:1。这一比例下，CQDs 的荧光强度显著高于其他比例，表明醋酸掺杂能够有效促进 CQDs 的成核和生长，同

时优化其表面化学性质。值得注意的是, HC-CQDs 的荧光强度略高于 H-CQDs, 这可能是由于醇热法在反应过程中减少了副反应的发生, 从而提高了 CQDs 的纯度和荧光效率。

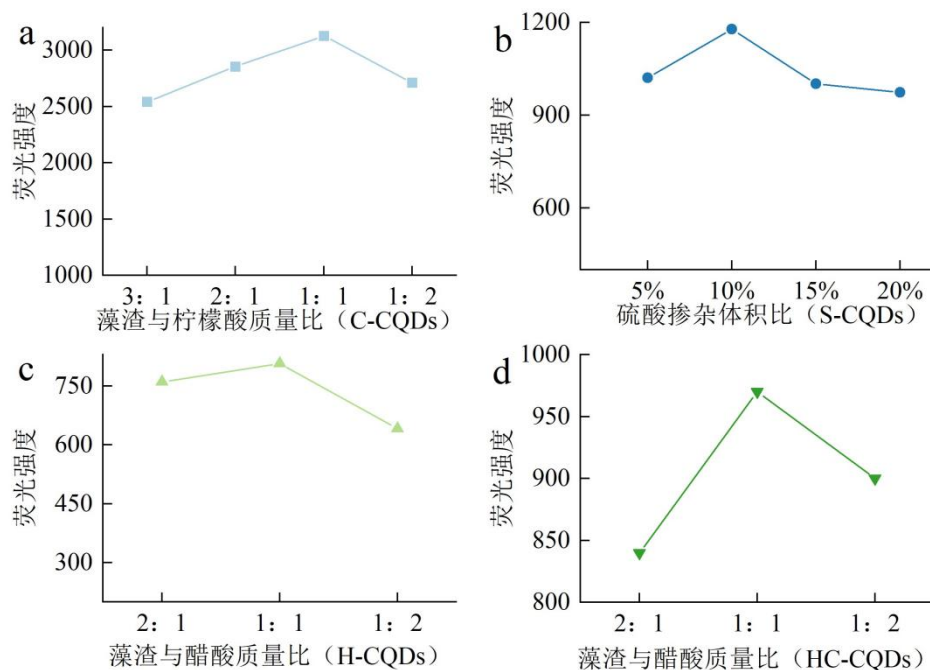


图 2-13 微藻基 CQDs 外源物最大荧光强度折线图

Fig.2-13 Line plot of the maximum fluorescence intensity of microalgae-based CQDs exogenous substances

2.5 本章小结

本研究以液体培养的 *Chlorella* sp. DT025 提取油脂后剩余的藻渣为原料, 采用水热合成法制备了 CQDs。首先, 通过水热法成功制备了 M-CQDs, 其尺寸均匀 (2.31 ± 0.02 nm), 水溶性和分散性良好, 表现出优异的光学性能, 最佳激发波长为 443 nm, 最佳发射波长为 534 nm。为进一步提升 CQDs 的性能, 尝试了多种掺杂策略。

通过补充柠檬酸作为碳源, 成功制备了 C-CQDs。与 M-CQDs 相比, C-CQDs 的荧光特性发生了显著变化, 其最佳激发波长和发射波长分别移至 362 nm 和 428 nm, 且平均直径略微增加至 2.34 ± 0.04 nm。然而, 尝试使用尿素和

氨水进行氮源掺杂时，并未达到预期效果，反而干扰了 CQDs 的合成过程，导致荧光性能显著下降。类似的，金属盐（如镁盐和银盐）的掺杂也未能成功，试验过程中产生了大量沉淀，表明金属盐的引入可能引发了副反应，阻碍了 CQDs 的有效合成。

相比之下，酸调节策略取得了显著成效。通过硫酸掺杂制备的 S-CQDs 表现出独特的红光发射特性，其最佳激发波长为 400 nm，最佳发射波长为 653 nm，荧光强度较未掺杂 CQDs 提高了 19.39%，平均直径为 2.72 ± 0.02 nm。此外，醋酸掺杂制备的 H-CQDs 和醇热法制备的 HC-CQDs 也表现出荧光特性的改变，两者的平均直径分别为 2.31 ± 0.02 nm 和 2.33 ± 0.04 nm，表明醋酸掺杂和醇热法在调控 CQDs 性能方面具有潜力。

为进一步优化 CQDs 的性能，对不同掺杂比例进行了系统研究。结果表明，C-CQDs 的最适掺杂比例为藻渣与柠檬酸的质量比 1:1，S-CQDs 的最适硫酸掺杂浓度为 10%，而 H-CQDs 和 HC-CQDs 的最适掺杂比例均为藻渣与醋酸的质量比 1:1。这些优化条件为 CQDs 的高效制备和性能调控提供了重要依据。

第三章 微藻基 CQDs 对微藻生长及产油的影响

3.1 引言

近年来, CQDs 作为一种新型的纳米材料, 因其独特的光学性质、良好的生物相容性和低毒性, 在生物技术领域展现出广阔的应用前景。研究表明, CQDs 能够通过增强光合作用、促进营养吸收以及调控代谢途径等方式, 显著提高微藻的生长速率和油脂积累效率。此外, CQDs 还具有抗氧化和抗胁迫的特性, 能够帮助微藻在不利环境条件下维持正常的生理功能。这些特性使得 CQDs 成为优化微藻生产和油脂合成的潜在工具。在第二章中, 采用 *Chlorella* sp. DT025 提取油脂后剩余藻渣水热合成并掺杂制备出了尺寸均匀, 水溶性及分散性良好的五种 CQDs, 分别为 M-CQDs、C-CQDs、S-CQDs、H-CQDs、HC-CQDs。各类 CQDs 荧光特性与粒径大小均有所差异。而 CQDs 对微藻的影响具有双重性: 低浓度时促进生长和代谢, 高浓度时可能产生毒性。具体效果取决于 CQDs 的浓度、尺寸、表面性质^[97]。

本章主要探究上述合成的五种 CQDs 在不同浓度下对微藻生产及产油的影响, 探明各类 CQDs 的最适浓度, 并且在最适浓度下设置不同的光照强度水平, 探究不同 CQDs 在各种光照强度下的表现。

3.2 试验材料与仪器

试验相关藻种、试剂与仪器同 2.2。

3.3 试验方法

3.3.1 小球藻培养

将小球藻种子液以 10% (体积分数) 接种到含有 50 mL BG-11 培养基的 250 mL 玻璃瓶中, 至于光照培养箱中, 在 25 °C, 5000 lx, 光暗比 16 : 8 h 条件下, 每天震荡混匀 1~2 次, 培养至对数期 (约 4 d) 用于试验。

在 BG-11 培养基中添加 2.2.3 合成的五种微藻基 CQDs, 浓度梯度均为 0、5、10、20、40 mg/L。按 10% 接种量接种前期培养至对数期的小球藻 (细胞数约 1.4×10^8 个/mL), 在 25 °C, 5000 lx, 光暗比 16 : 8 h 条件下, 每天震荡混匀

1~2 次，培养至 12 d。

选取各微藻基 CQDs 最佳浓度，扩大培养。设置 3 个光照强度水平梯度，探究光强的影响。分别为 2500、5000、8000 lx，每个梯度各设置 3 次重复，进行培养与检测。

3.3.2 叶绿素含量测定

采取甲醇浸提的方法测定小球藻细胞中各种叶绿素的含量，取 2 mL 藻液，在 4 °C 下 4500 rpm 离心 10 min，去除上清液后加入等体积 90% 甲醇，震荡混匀后于 60 °C 水浴 10 min，冷却后再次在 4 °C 下 4500 rpm 离心 10 min，取上清液 200 μ L 加入 96 孔板中，于酶标仪中测定其 652 nm 与 665 nm 处吸光值，根据下式计算叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量^[98]。

$$\text{叶绿素 a (mg/L)} = 16.82A_{665} - 9.28A_{652}$$

$$\text{叶绿素 b (mg/L)} = 36.92A_{652} - 16.65A_{665}$$

3.3.3 油脂含量测定

取两份等量的，培养至一定时间的小球藻培养液以 6000 rpm/min 离心 10 min，纯水洗涤湿藻体并离心，重复三次，其中一份湿藻体烘干至恒重，另一份湿藻体用于油脂含量测定。采用改良的酸热法测定小球藻细胞内的油脂含量:按每克湿藻体添加 10 mL 试剂，添加 4 mol/L HCl，震荡混匀，室温下静置一定时间后，沸水浴 3~5 min，立即置于-20 °C 速冷，冷却后，加入甲醇，震荡混匀，再加等量氯仿，震荡混匀，后以 6000 rpm 离心 10 min，收集下层氯仿层，再加入等体积的 0.15% 氯化钠溶液，混匀后再次离心，收集下层氯仿层，在水浴锅中蒸去氯仿，于 80 °C 烘至恒重，记录质量，按下式计算油脂含量^[99]。

$$\text{油脂含量} = \text{油脂质量} / \text{藻体干重} \times 100\%$$

$$\text{油脂产量} = (\text{油脂含量} \times \text{藻体干重}) \times \text{藻液体积}$$

3.3.4 脂肪酸组分分析

提取油脂后，在干燥的油脂中加入 2 mL 的 5% 硫酸甲醇溶液，混匀并在 90 °C 下水浴 2 h，冷却后添加 2 mL 正己烷洗涤反应混合物，并加入适量无水硫酸钠除水。静置后取 1 mL 上清液使用 0.22 μ m 有机微孔滤膜过滤，加入 2 μ L 内标（十七烷酸甲酯）。使用气相色谱仪进行分析，使用 HP-5 色谱柱（30

m×0.32 mm×0.5 μm) 和 FID 检测器分析油脂中各组分脂肪酸占比, 升温条件为 40 °C 保持 10 min, 后以 5 °C/min 的速度升温至 120 °C, 再以 4 °C/min 的速度升温至 190 °C, 3 °C/min 的速度升温至 240 °C 并保持 20 min。进样量为 0.6 μL, 载气流速 0.8 mL/min, 分流比 10 : 1, 运行 80.17 min, 根据下式计算其脂肪酸质量分数以及组分含量^[100]。

$$\text{脂肪酸质量分数 (\%)} = \frac{\text{脂肪酸峰面积}}{\text{所有脂肪酸峰面积之和} - \text{十七烷酸甲酯峰面积}}$$

$$\text{组分含量 (mg/L)} = \text{油脂含量} \times \text{脂肪酸质量分数}$$

3.3.5 数据分析

同 2.3.5。

3.4 结果与讨论

3.4.1 不同浓度微藻基 CQDs 对小球藻叶绿素含量、细胞干重以及油脂含量的影响

按照 3.3.1 节所述方法进行试验, 研究不同浓度 CQDs 对小球藻生长和代谢的影响。通过测定叶绿素含量、细胞干重和油脂含量等指标, 分析了 CQDs 对小球藻生理活性的调控作用。

不同 M-CQDs 浓度下小球藻叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的变化趋势如图 3-1 所示。试验结果表明, 随着培养时间的延长, 所有处理组的叶绿素含量均呈现增长趋势, 说明 M-CQDs 并未显著抑制小球藻的光合作用活性。然而, 随着 M-CQDs 浓度的增加, 叶绿素含量呈现先升高后降低的趋势, 表明 M-CQDs 对叶绿素合成的影响具有浓度依赖性。在培养结束时, 10 mg/L M-CQDs 处理组的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量达到最高值, 分别为 24.60 和 15.19 mg/L, 较对照组分别提升了 14.00% 和 16.40%。这一结果说明, 适宜浓度的 M-CQDs 能够显著促进小球藻叶绿素的合成, 可能是通过增强光合作用效率或优化光能利用率实现的。然而, 当 M-CQDs 浓度过高时, 叶绿素含量反而下降, 这可能是由于高浓度 CQDs 对细胞膜或光合系统的潜在毒性作用^[101]。

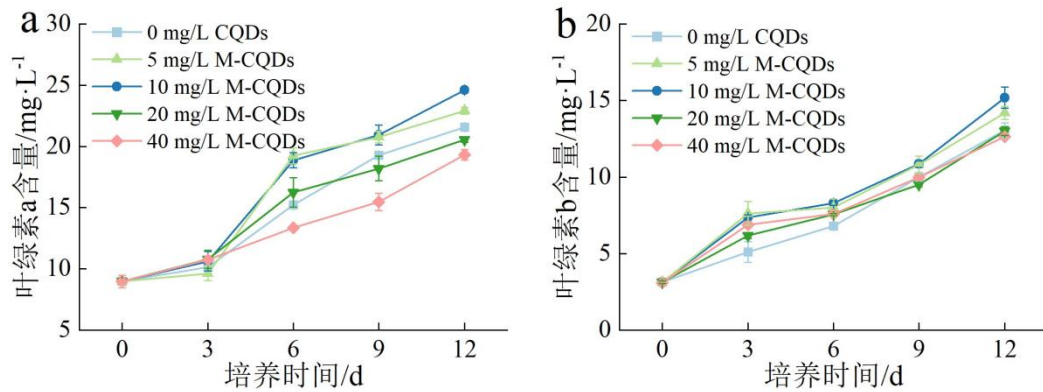


图 3-1 不同 M-CQDs 浓度下小球藻叶绿素含量

Fig. 3-1 Chlorophyll content of *Chlorella* at different concentrations of M-CQDs

图 3-2 显示了培养第 12 天时小球藻细胞干重和油脂含量的变化。试验结果表明，10 mg/L M-CQDs 处理组的细胞干重和油脂含量均达到最高值，分别为 4.06 g/L 和 27.9%，其中油脂总产量较对照组提高了 56.00%。这一显著提升表明，适宜浓度的 M-CQDs 不仅能够促进小球藻的生物量积累，还能显著提高其油脂合成能力。M-CQDs 可能通过调控细胞内代谢途径（如碳流分配）或增强能量代谢效率，从而促进油脂的积累。然而，当 M-CQDs 浓度过高时，细胞干重和油脂含量均出现下降，说明高浓度 M-CQDs 对细胞生长和代谢产生抑制作用。这与文献中报道的其他纳米材料（如纳米颗粒）对微藻生长的影响结果一致。例如，研究表明，纳米颗粒在低浓度下可能通过促进光吸收或增强抗氧化能力来促进微藻生长，而在高浓度下则可能引发氧化应激或细胞膜损伤，从而抑制生长^[102]。

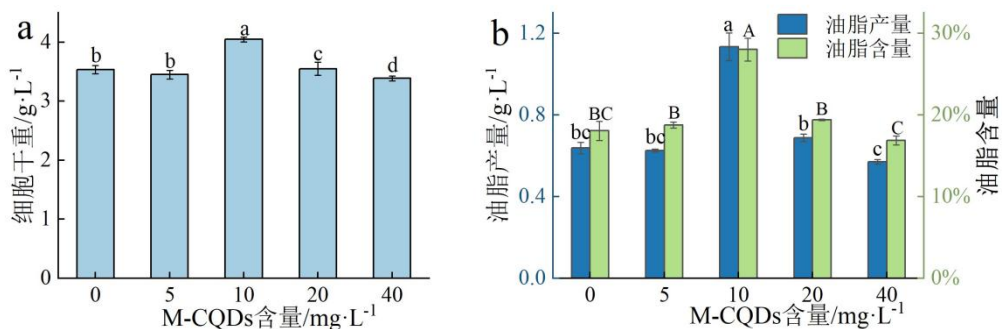


图 3-2 不同 M-CQDs 浓度下小球藻细胞干重以及油脂产量

Fig. 3-2 *Chlorella* cell dry weight and oil yield at different concentrations of M-CQDs

在 10 mg/L M-CQDs 处理下，小球藻的叶绿素 a（图 3-3 a）和叶绿素 b（图 3-3 b）含量分别达到 24.45 mg/L 和 14.95 mg/L，较对照组分别提升了 13.30%

和 14.56%。这一结果表明，S-CQDs 与 M-CQDs 类似，能够显著促进小球藻的光合色素合成，可能是通过增强光能吸收效率或优化光合作用过程中的电子传递链实现的。此外，如图 3-4 所示，10 mg/L S-CQDs 处理下，小球藻的细胞干重（图 3-4 a）和油脂含量（图 3-4 b）分别达到 3.77 g/L 和 22.1%，油脂总产量较对照组提高了 33.80%。这一显著提升进一步证实了 S-CQDs 在促进小球藻生物量和油脂积累方面的积极作用。

与 M-CQDs 的处理结果相比，S-CQDs 对小球藻的促进作用表现出高度相似性。例如，M-CQDs 处理下叶绿素 a 和叶绿素 b 含量分别提升了 14.00% 和 16.40%，而 S-CQDs 处理下的提升幅度分别为 13.30% 和 14.56%，两者差异较小。此外，M-CQDs 处理下细胞干重和油脂含量分别为 4.06 g/L 和 27.9%，而 S-CQDs 处理下的相应值为 3.77 g/L 和 22.1%，虽然略低于 M-CQDs，但仍显著高于对照组。这些结果表明，无论是 M-CQDs 还是 S-CQDs，在 10 mg/L 的浓度下均能最大程度地促进小球藻的生物量和油脂积累。

这种相似性可能与 CQDs 的纳米尺寸效应和表面化学性质有关。CQDs 的纳米尺寸使其能够高效地进入细胞，并通过表面官能团与细胞内的代谢途径相互作用，从而促进光合作用和油脂合成^[103]。此外，CQDs 的荧光特性可能通过增强光能利用率进一步优化了小球藻的生长和代谢。然而，需要注意的是，尽管 S-CQDs 和 M-CQDs 在促进小球藻生长方面表现出相似性，但两者的荧光特性和表面化学性质存在差异。这种光学性质的差异可能对小球藻的光合作用效率产生不同的影响^[104]。

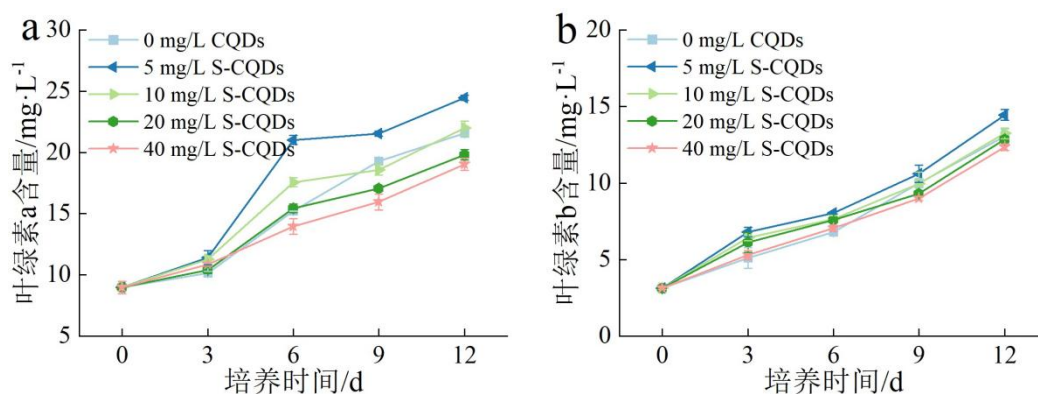


图 3-3 不同 S-CQDs 浓度下小球藻叶绿素含量

Fig. 3-3 Chlorophyll content of *Chlorella* at different concentrations of S-CQDs

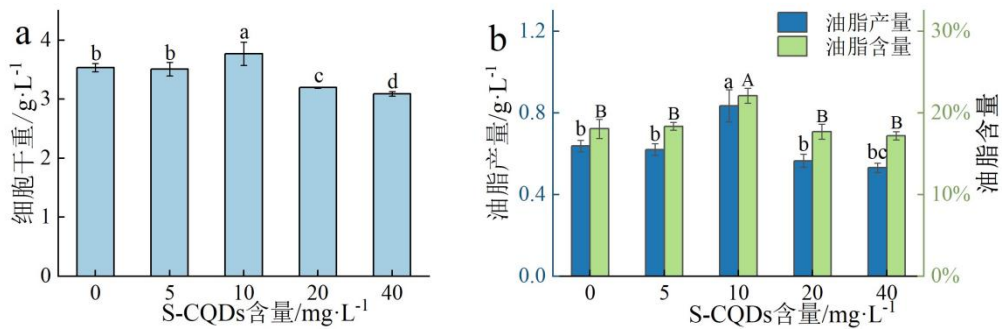


图 3-4 不同 S-CQDs 浓度下小球藻细胞干重以及油脂产量

Fig. 3-4 *Chlorella* cell dry weight and oil yield at different concentrations of S-CQDs

图 3-5 所示，尽管 C-CQDs 在试验中略微提高了小球藻的叶绿素 a 含量，但其对小球藻生物量和油脂积累的促进作用并不显著。图 3-6 显示，C-CQDs 处理下细胞干重和油脂含量均未达到显著提升的效果。与对照组相比，C-CQDs 处理组的生物量和油脂产量仅分别提高了 5.02% 和 7.96%，远低于 M-CQDs 和 S-CQDs 处理组的效果。这表明，即使 C-CQDs 在荧光强度方面表现出优异的性能，但其在小球藻培养体系中的应用效果有限。C-CQDs 对小球藻生长和代谢的促进作用较弱，可能与其表面化学性质和荧光特性有关。C-CQDs 的最佳激发波长为 362 nm，最佳发射波长为 428 nm，其荧光特性主要集中在紫外和蓝光区域，而小球藻的光合作用主要依赖于可见光（尤其是红光和蓝光）的吸收。因此，C-CQDs 的荧光特性可能无法有效匹配小球藻的光合作用需求^[105]。此外，C-CQDs 的表面官能团（如羧基和羟基）可能在与小球藻细胞相互作用时引发一定的毒性效应，从而抑制了细胞的生长和代谢^[106]。

相比之下，M-CQDs 和 S-CQDs 在小球藻培养体系中表现出更好的适用性。M-CQDs 的最佳激发波长为 443 nm，最佳发射波长为 534 nm，而 S-CQDs 的最佳激发波长为 400 nm，最佳发射波长为 653 nm，两者的荧光特性更接近小球藻光合作用的光谱需求，从而能够更有效地促进小球藻的生长和油脂积累。此外，M-CQDs 和 S-CQDs 的表面化学性质可能更有利于与微藻细胞的相互作用，避免了潜在的毒性效应。

因此，C-CQDs 可能更适用于荧光传感、生物成像等领域，而不适合作为小球藻培养的促进剂。未来研究可以进一步优化 C-CQDs 的表面修饰，以提高其在小球藻培养中的适用性，同时为其在其他领域的应用提供更多可能性。

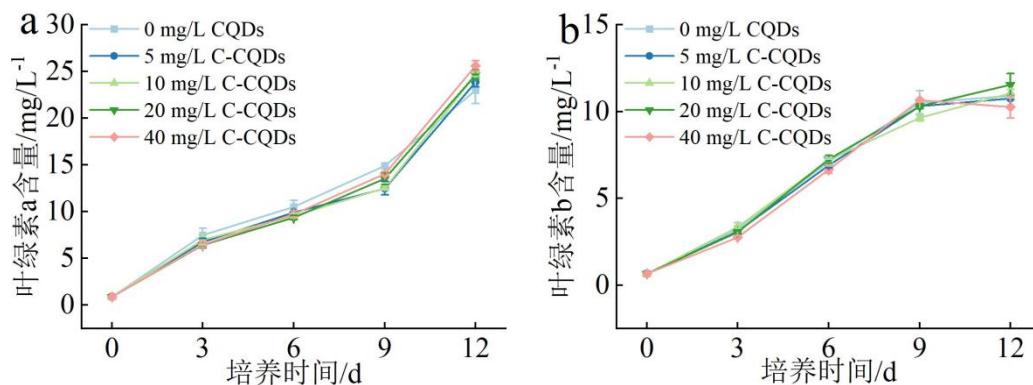


图 3-5 不同 C-CQDs 浓度下小球藻叶绿素含量

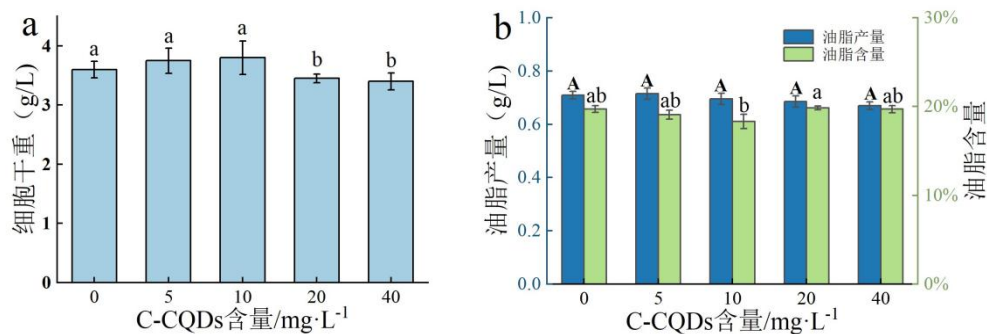
Fig. 3-5 Chlorophyll content of *Chlorella* at different concentrations of C-CQDs

图 3-6 不同 C-CQDs 浓度下小球藻细胞干重以及油脂产量

Fig. 3-6 *Chlorella* cell dry weight and oil yield at different concentrations of C-CQDs

如图 3-7 所示, 在培养过程中, 不同浓度 H-CQDs, 小球藻的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量在培养第 6-9 天表现出显著差异。然而, 随着培养时间的延长, 叶绿素 b 的差异逐渐减小, 到培养末期 (第 12 天), 各浓度处理下的叶绿素含量 b 趋于接近。这表明, H-CQDs 在培养初期对小球藻光合色素的合成具有显著的促进作用, 但随着培养时间的延长, 小球藻可能逐渐适应了 CQDs 的存在, 或者 CQDs 的促进作用趋于饱和。

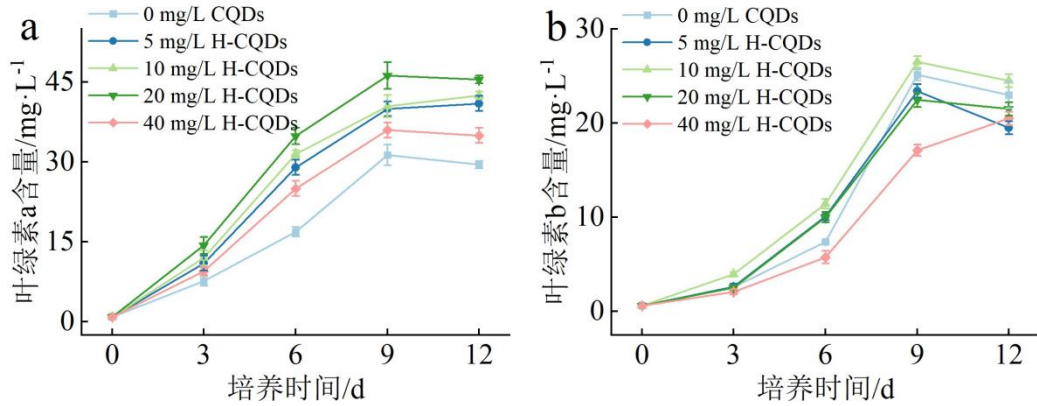


图 3-7 不同 H-CQD 浓度下小球藻叶绿素含量

Fig.3-7 Chlorophyll content of *Chlorella* at different concentrations of H-CQDs

H-CQDs 在 5 mg/L 浓度下对小球藻细胞干重（图 3-8 a）的促进效果最佳，细胞干重达到 4.55 g/L，较对照组提高了 29.62 %。进一步结合油脂含量（图 3-8 b）分析发现，尽管 H-CQDs 在 5 mg/L 浓度下对细胞干重的促进效果最佳，但其油脂产量在 20 mg/L 浓度下达到最大值，为 0.95 g/L，较对照组提高了 53.23%。这表明，虽然较低浓度的 H-CQDs 能够有效促进小球藻的生物量积累，但较高浓度的 H-CQDs 更有利于油脂的合成和积累。这一现象可能与 CQDs 对小球藻代谢途径的调控作用有关。较高浓度的 CQDs 可能通过增强细胞内碳流的分配，促进油脂合成相关酶的表达，从而显著提高油脂产量^[107]。

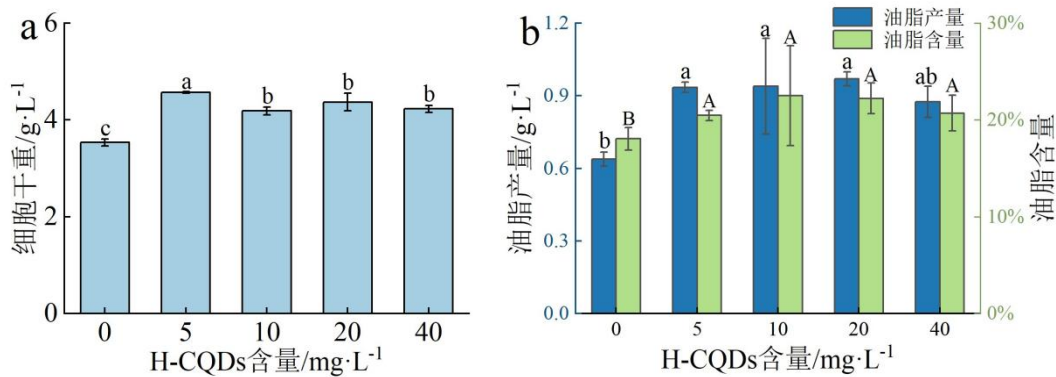


图 3-8 不同 H-CQDs 浓度下小球藻细胞干重以及油脂产量

Fig. 3-8 *Chlorella* cell dry weight and oil yield at different concentrations of H-CQDs

HC-CQDs 在培养前期促进小球藻叶绿素含量（图 3-9）积累上体现出与 H-CQDs 类似的效果，小球藻的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量在培养第 6 天表现出显著差异。不同的是，经 HC-CQDs 处理后的小球藻叶绿素 b 含量在第 9 天时已经与对照趋于接近，这可能与 HC-CQDs 在培养体系中的稳定性有关，其在水溶液中的分散稳定性相对较差，使得在培养体系中更快失去作用。

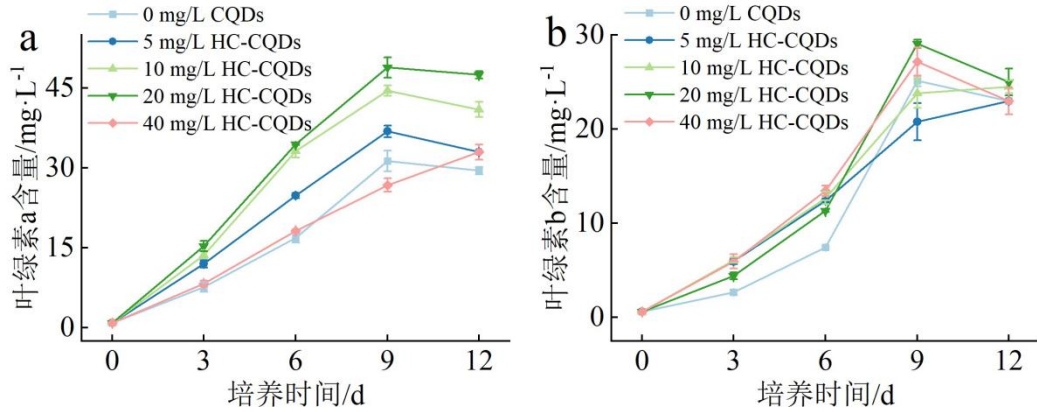


图 3-9 不同 HC-CQDs 浓度下小球藻叶绿素含量

Fig.3-9 Chlorophyll content of *Chlorella* at different concentrations of HC-CQDs

HC-CQDs 在 20 mg/L 浓度下表现出更好的促进效果，细胞干重（图 3-10 a）达到 4.12 g/L，较对照组提高了 17.37%。同时，HC-CQDs 在 20 mg/L 浓度下的油脂产量（图 3-10 b）也达到最大值，为 1.02 g/L，较对照组提高了 64.52%。H-CQDs 和 HC-CQDs 在不同浓度下对小球藻生长和代谢的影响表现出一定的差异。与 H-CQDs 造成差异可能与两种 CQDs 的表面化学性质和荧光特性有关。HC-CQDs 的荧光特性可能因醇热法的引入而进一步优化，从而在较高浓度下表现出更好的促进效果。

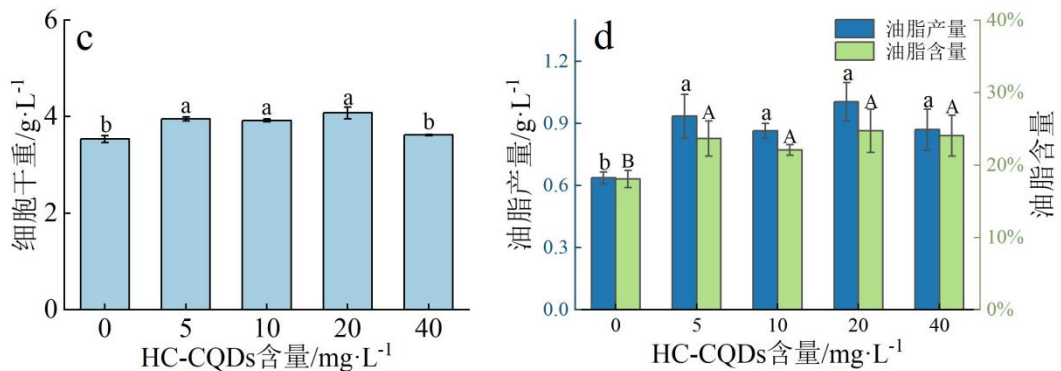


图 3-10 不同 HC-CQDs 浓度下小球藻细胞干重以及油脂产量

Fig. 3-10 *Chlorella* cell dry weight and oil yield at different concentrations of HC-CQDs

3.4.2 不同光照强度下微藻基 CQDs 对小球藻叶绿素含量、细胞干重以及油脂含量的影响

结合 3.4.1 的试验结果，选取 M-CQDs 与 S-CQDs 浓度为 10 mg/L，H-CQDs 与 HC-CQDs 为 20 mg/L 进行后续光照试验。

小球藻叶绿素含量图中（图 3-11 a, b），光照强度为 2500 lx 时，叶绿素 a 含量较低，而叶绿素 b 含量偏高，添加 M-CQDs 导致小球藻叶绿素 a, b 含量较

对照组有所降低。当光照强度为 5000 lx 时，对照组叶绿素 a 的含量在第 9 天达到最大值，随后降低，添加微藻基 CQDs 使得小球藻叶绿素的积累较为稳定。当光照强度达到 8000 lx 时，整体叶绿素含量低于 5000 lx 组，推测由于光照过高时，会导致小球藻光合色素受到破坏以及过氧化产物的积累。添加微藻基 CQDs 一定程度上保护了叶绿素等光合色素的积累。其中 S-CQDs 较好的促进了小球藻叶绿素 a 的合成。

小球藻细胞干重图中（图 3-11 c），5000 lx 下，M-CQDs 与 S-CQDs 处理下细胞干重较对照组相比提高了 10.70% 和 5.50%，表明微藻基 CQDs 促进光合色素的积累进而促进了小球藻生物量的积累，结合 M-CQDs 的荧光特性，这种增效作用可能是由于将吸收的蓝光能量转移至叶绿体色素分子，拓展光利用范围（尤其弥补绿光区吸收不足）。结合图 3-11 d，低光照条件下不利于小球藻油脂的积累，主要是小球藻在低光照条件下生物量难以积累导致，而添加微藻基 CQDs 也并未达到改善光质的效果。5000 lx 下，M-CQDs 较好的促进了小球藻油脂的积累，油脂含量为 289.74 mg/g，最高产量达到了 1.41 g/L。而在 8000 lx 时，S-CQDs 的表现更为优异，油脂含量为 257.68 mg/g，S-CQDs 具备远红光发射，可以通过增强碳固定关键酶活性，加速卡尔文循环，同时降低光抑制风险，维持 PSII 反应中心稳定性。

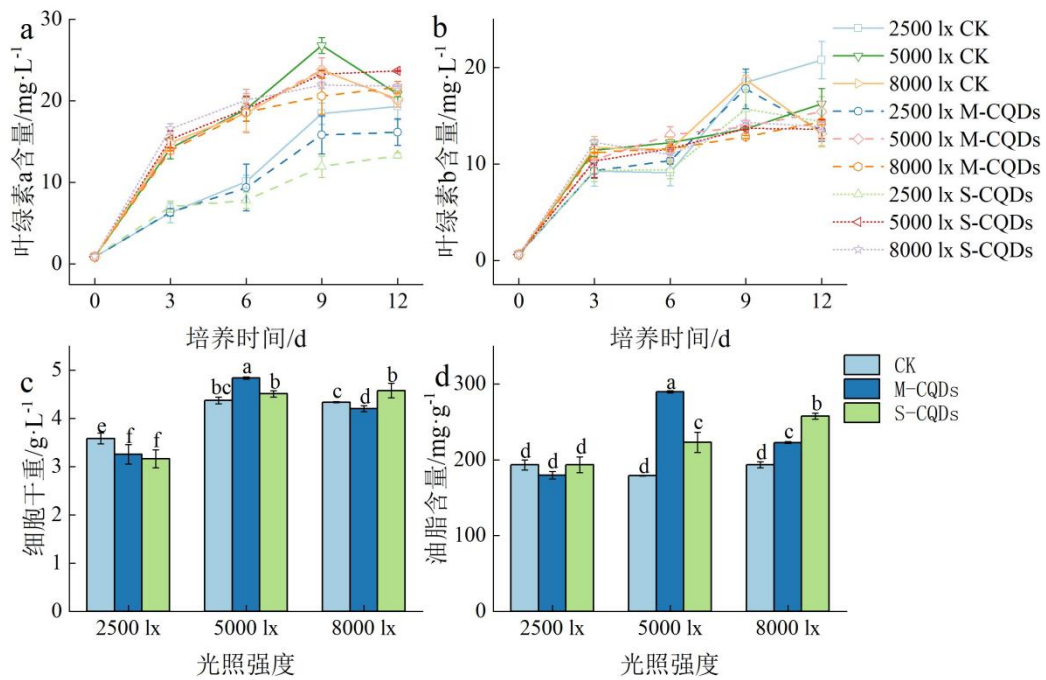


图 3-11 不同光照强度下小球藻的叶绿素含量、细胞干重与油脂含量

Fig.3-11 Chlorophyll content, cell dry weight and oil content of *Chlorella* under different light intensities

如图 3-12 a, b 所示, 添加 H-CQDs 和 HC-CQDs 在不同光照强度条件下均显著提高了小球藻的叶绿素含量, 尤其是在 5000 lx 的光照强度下, 效果最为显著。具体而言, 在 5000 lx 条件下, H-CQDs 和 HC-CQDs 处理组的叶绿素 a 含量较对照组分别提高了 52.16% 和 60.07%, 表明微藻基 CQDs 在中等光照强度下对小球藻光合色素的合成具有显著的促进作用。此外, 叶绿素 b 的含量在培养前 9 天也表现出显著提升, 但在培养末期 (第 12 天), 各处理组之间的差异逐渐缩小, 这可能是因为小球藻在培养后期逐渐适应了光照条件和微藻基 CQDs 的存在, 导致叶绿素合成的速率趋于平衡。

在细胞干重方面, 图 3-12 c 显示, 添加 H-CQDs 和 HC-CQDs 在不同光照强度下均能显著提高小球藻的生物量。具体而言, 在 2500 lx 光照强度下, H-CQDs 和 HC-CQDs 处理组的细胞干重较对照组分别提高了 18.12% 和 19.71%; 在 5000 lx 光照强度下, 分别提高了 35.80% 和 28.04%, 而在 8000 lx 光照强度下, 分别提高了 24.67% 和 27.60%。这些结果表明, 微藻基 CQDs 在不同光照条件下均能有效促进小球藻的生物量积累, 尤其是在 5000 lx 的中等光照强度下,

促进作用最为显著。然而，尽管微藻基 CQDs 在不同光照条件下显著提高了小球藻的生物量，但对油脂含量的影响却相对有限。图 3-12 d 显示，不同光照强度下，H-CQDs 和 HC-CQDs 处理组的油脂含量与对照组相比基本没有显著差异。这表明，微藻基 CQDs 主要通过促进光合作用和细胞生长来提高小球藻的生物量，而对油脂合成途径的调控作用较弱。这一现象可能与微藻基 CQDs 对小球藻代谢途径的调控机制有关，微藻基 CQDs 可能更倾向于促进碳流向生物量积累而非油脂合成。

H-CQDs 和 HC-CQDs 在不同光照条件下均能显著提高小球藻的叶绿素含量和生物量，尤其是在 5000 lx 的中等光照强度下，促进作用最为显著。然而，微藻基 CQDs 对油脂含量的影响较小，表明其对小球藻代谢途径的调控作用主要集中在光合作用和细胞生长方面。这些结果为微藻基 CQDs 在小球藻培养中的应用提供了重要依据，同时也为优化光照条件和微藻基 CQDs 浓度以最大化小球藻生物量和油脂产量的平衡提供了新的思路。

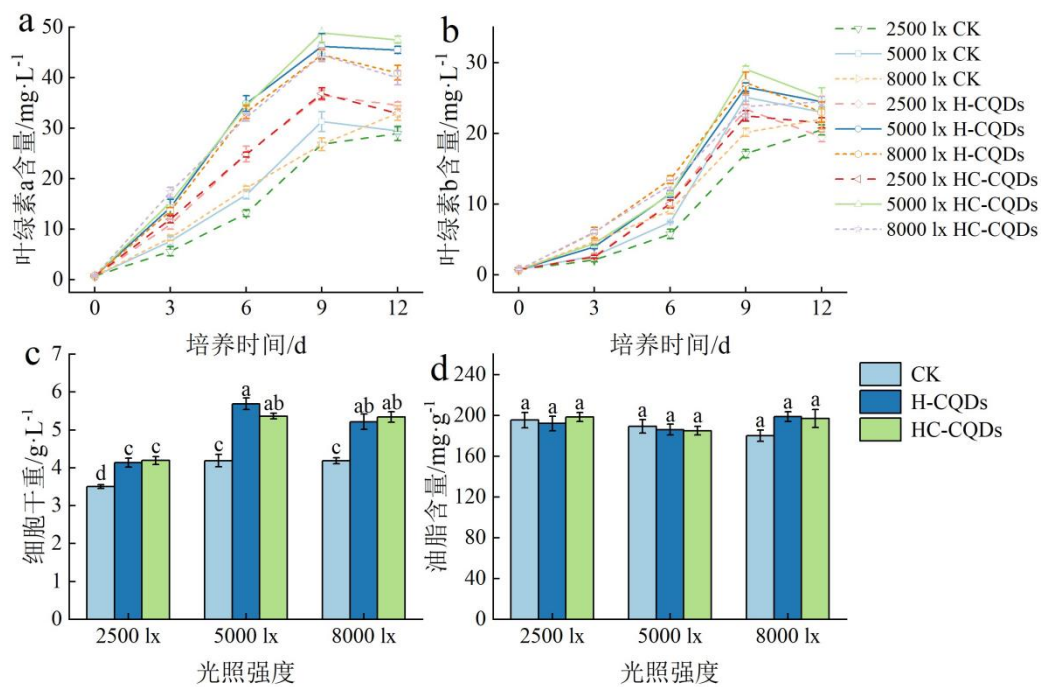


图 3-12 不同光照强度下小球藻的叶绿素含量、细胞干重与油脂含量

Fig.3-12 Chlorophyll content, cell dry weight and oil content of *Chlorella* under different light intensities

3.4.3 微藻基 CQDs 对小球藻脂肪酸组分的影响

结合 3.4.2, 选取适宜小球藻油脂积累的微藻基 CQDs, 分别为 M-CQDs、S-CQDs、H-CQDs 与 HC-CQDs, 探究其在最适浓度条件下, 对小球藻藻脂肪酸组分是否具备影响。

研究表明, C16-C18 脂肪酸含量的提升对生物柴油的性能具有显著的改善作用^[108], 如表 3-1 所示, 通过对比未添加微藻基 CQDs 的对照组, 添加 M-CQDs 后, C16-C18 脂肪酸含量从 494.67 mg/L 显著增加至 911.89 mg/L, 提升了 84.34%。表明 M-CQDs 能够有效调控小球藻的脂肪酸代谢途径, 促进 C16-C18 脂肪酸的合成。此外, 添加 S-CQDs 后, C16-C18 脂肪酸含量也达到 600.09 mg/L, 较对照组提高了 21.31%, 虽然提升幅度低于 M-CQDs, 但仍显示出 S-CQDs 对脂肪酸组成的显著调控作用。C18:1 脂肪酸作为一种理想的单不饱和脂肪酸, 在生物柴油生产中同样具有重要的应用价值^[109], 试验结果显示, 添加微藻基 CQDs 后, C18:1 脂肪酸含量显著增加, M-CQDs 处理组的 C18:1 脂肪酸含量从 133.48 mg/L 提升至 284.03 mg/L, 增幅达 112.79%, S-CQDs 处理组的 C18:1 脂肪酸含量也增加至 165.40 mg/L, 较对照组提高了 23.91%。这一结果表明, 微藻基 CQDs 不仅能够促进总脂肪酸含量的增加, 还能优化脂肪酸的组成, 使其更符合生物柴油生产的需求。此外, 在添加 M-CQDs 与 S-CQDs 的试验组中, 检测到了 C20:2 脂肪酸的存在, 其含量分别为 27.22 mg/L (M-CQDs 处理组) 和 60.03 mg/L (S-CQDs 处理组)。已有研究证实, C20:2 脂肪酸对提高小球藻细胞的耐受性及促进细胞膜修复具有积极作用^[110]。C20:2 脂肪酸的出现进一步证实了 CQDs 在调控小球藻细胞生理特性方面的潜力。

表 3-1 添加 10 mg/LM-CQDs 与 S-CQDs 后小球藻的油脂脂肪酸含量 (mg/L)

Table 3-1 Fatty acid content of *Chlorella* after addition of 10 mg/L M-CQDs and S-CQDs (mg/L)

脂肪酸种类	CK	M-CQDs	S-CQDs
C11:0	21.31±0.38	15.02±0.15**	10.83±0.42**
C15:0	14.49±0.26	16.56±0.17**	17.88±0.70**
C15:1	19.90±0.36	11.79±0.12**	12.18±0.48**
C16:0	231.16±4.17	424.37±4.28**	272.70±10.64**
C16:1	51.15±0.92	94.30±0.95**	63.61±2.48**
C17:0	30.47±0.55	54.31±0.55**	38.38±1.50**
C18:0	181.89±3.28	338.91±3.42**	226.30±8.83**
C18:1	133.48±2.41	284.03±2.86**	165.40±6.45**
C20:0	101.60±1.83	134.30±1.35**	101.89±3.97
C20:2	-	27.22±0.27**	60.03±2.34**

注:*表示数据统计显著性差异, * $P < 0.5$, ** $P < 0.01$

添加 20 mg/L H-CQDs 与 HC-CQDs 后小球藻的油脂脂肪酸含量 (表 3-2) 同样发生较大的变化, C16-C18 脂肪酸含量分别达到了 846.17 mg/L 与 783.04 mg/L, 较对照组提升了 71.06%和 58.30%, C18:1 脂肪酸含量分别达到了 179.81 mg/L 与 186.40 mg/L, 较对照组提升了 34.71%和 39.65%。

表 3-2 添加 20 mg/L H-CQDs 与 HC-CQDs 后小球藻的油脂脂肪酸含量 (mg/L)
Table 3-2 Fatty acid content of *Chlorella* after addition of 20 mg/L H-CQDs and HC-CQDs (mg/L)

脂肪酸种类	CK	H-CQDs	HC-CQDs
C11:0	21.31±0.38	28.71±0.79**	24.56±0.49**
C15:0	14.49±0.26	20.52±0.54**	18.06±0.33**
C15:1	19.90±0.36	22.81±0.74**	24.81±0.46**
C16:0	231.16±4.17	311.39±8.61**	293.16±5.29**
C16:1	51.15±0.92	71.90±1.91**	67.76±1.17**
C17:0	30.47±0.55	43.05±1.14**	37.98±0.70**
C18:0	181.89±3.28	245.02±6.78**	226.74±4.17**
C18:1	133.48±2.41	179.81±4.97**	186.40±3.06**
C20:0	101.60±1.83	136.86±3.79**	126.65±2.33**
C20:2	-	-	-

注:*表示数据统计显著性差异, * $P<0.5$, ** $P<0.01$

以上结果表明, 微藻基 CQDs 的添加对小球藻的脂肪酸组成具有显著影响。不仅能够显著提升 C16-C18 脂肪酸的含量, 还能优化 C18:1 脂肪酸的比例, 从而提高生物柴油的质量。此外, M-CQDs 与 S-CQDs 的引入还促进了 C20:2 脂肪酸的合成, 进一步增强了小球藻细胞的耐受性和修复能力。微藻基 CQDs 在小球藻脂肪酸代谢调控中具有重要作用, 为其在生物柴油生产中的应用提供了新的思路。

3.5 本章小结

本章通过构建浓度梯度试验体系, 系统探究了五种微藻基 CQDs (M-CQDs、C-CQDs、S-CQDs、H-CQDs 和 HC-CQDs) 对小球藻生理代谢的调控规律。研究重点从光合色素合成 (叶绿素 a、b)、生物量积累 (细胞干重) 及次生代谢产物 (油脂) 三个指标解析其剂量效应, 并揭示最适浓度下光强参数与 CQDs 特性的协同作用机制。试验结果表明, 不同结构 CQDs 对藻细胞代谢途径的调控呈现显著特异性: M-CQDs 和 S-CQDs 分别在中等光强 (5000 lx) 与高光强 (8000 lx) 条件下展现卓越性能, H-CQDs 与 HC-CQDs 专精于生物量提升。

具体而言, M-CQDs 在 5000 lx 光强、10 mg/L 处理组中, 小球藻叶绿素 a、b 含量分别提升 14.0% 和 16.4%, 细胞干重和油脂产量较对照组显著增加 15.67% 和 56.00%, 其通过优化脂肪酸组分显著提升生物柴油品质, C16-C18 脂肪酸总量增加 84.3%, C18:1 含量提升 112.8%, 并诱导 C20:2 脂肪酸新生合成。

S-CQDs 则在高光下（8000 lx）使油脂含量达到 257.68 mg/g，同步提升 C16-C18（提升 21.3%）和 C18:1（提升 23.9%）脂肪酸丰度。H-CQDs 与 HC-CQDs 表现出独特的生物量强化特性，在 5 mg/L H-CQDs 和 20 mg/L HC-CQDs 处理下，小球藻细胞干重分别提升 29.62%和 27.60%，其 C16-C18 脂肪酸增幅达 71.1%和 58.3%。以上研究发现微藻基 CQDs 对小球藻的生长与产油具备差异化作用机制，研究揭示了 CQDs 结构-功能-环境参数的构效关系，即其对小球藻的促进作用具备浓度与光照依赖特性。

第四章 微藻响应微藻基 CQDs 生理-分子机制研究

4.1 引言

近年来, CQDs 作为一种新型纳米材料, 因其独特的光学性质、良好的生物相容性和低毒性, 在生物技术领域展现出广阔的应用前景。第三章研究表明, 通过藻渣制备的各种 CQDs 对小球藻生理活性的调控作用不一, 在 5000 lx 下, M-CQDs 促进生物量和油脂的积累, S-CQDs 在高光照条件下 (8000 lx) 表现出优异的促进作用, H-CQDs 与 HC-CQDs 较好的增强小球藻的光合作用效率, 从而促进小球藻生物量积累, 但对油脂含量的影响较小。然而, CQDs 对微藻生长及代谢物积累的具体作用机制尚不明确^[11]。

研究 CQDs 对小球藻氧化应激水平的调控作用, 不仅有助于揭示 CQDs 促进微藻生长和代谢物积累的机制, 还能优化微藻培养条件提供理论依据。本章以微藻基 CQDs (M-CQDs、S-CQDs、H-CQDs 与 HC-CQDs) 为研究对象, 通过检测小球藻细胞内抗氧化酶活性 (超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT) 以及脂质过氧化产物 (丙二醛 MDA) 等指标, 系统探究 CQDs 对小球藻氧化应激水平的调控作用。再采用 RT-qPCR 方法对小球藻油脂合成关键基因 (*acc*、*ppc*、*mdh*、*rbcl* 与 *acs2*) 进行表达量差异分析, 分析微藻基 CQDs 在小球藻生长和代谢物积累中的作用机制。通过本章研究, 旨在揭示微藻基 CQDs 调控小球藻油脂代谢的具体途径, 为其在小球藻培养中的应用提供科学依据, 同时为小球藻生物能源和高附加值化合物的高效生产开辟新的研究方向。

4.2 试验材料与仪器

试验相关藻种、试剂与仪器同 2.2。

4.3 试验方法

4.3.1 小球藻培养

在 BG-11 培养基中以最适浓度添加进行光照试验的四种微藻基 CQDs, 设置光照强度梯度 2500、5000、8000 lx。按 10%接种量接种前期培养至对数期的小球藻 (细胞数约 1.4×10^8 个/mL), 在 25 °C, 光暗比 16 : 8 h 条件下, 每天震

荡混匀 1~2 次，培养至 12 d

4.3.2 氧化应激水平测定

CAT 酶活使用过氧化氢试剂盒（科铭生物，钼酸铵比色法）测定，SOD 酶活使用超氧化物歧化酶试剂盒（科铭生物，NBT 法）测定，MDA 含量使用丙二醛含量试剂盒（科铭生物）测定。将待测组细胞数调整至 1×10^6 个/mL，取 1 mL 于 1.5 mL 离心管中，3000 rpm 离心 10 min，弃上清并加入 1 mL 酶提取液，震荡混匀，在超声波细胞破碎仪中破碎细胞，后续根据试剂盒说明书添加试剂，测定各酶活与含量。

4.3.3 小球藻总 RNA 的提取检测与反转录

从试验组和对照组中各量取 10 mL 藻液样本，以 9000 rpm 的转速离心处理 2 min，去除上清液后收集湿藻体。将湿藻体转移至预先灭菌并冷冻处理的研钵中，加入适量液氮进行快速研磨，直至获得均匀的粉末状藻体样品。采用 EasyPure® Plant RNA Kit 试剂盒对微藻样本进行总 RNA 提取，随后使用 Prime Script™ RT reagent Kit with gDNA Eraser（TaKaRa）试剂盒将 RNA 反转录为单链 cDNA。为验证 RNA 提取质量，取 1 μ L 提取产物，使用超微量核酸分析仪进行检测。

4.3.4 差异表达关键酶基因 RT-qPCR 检测

采用 cDNA 作为模板，利用 2 $\times$ San Taq PCR Mix 试剂盒进行引物扩增反应。PCR 反应体系配置如下：12.5 μ L 2 $\times$ PCR Master Mix，1.5 μ L 正向引物和 1.5 μ L 反向引物，1.5 μ L cDNA 模板，补充 ddH₂O 至总体积 25 μ L。扩增程序设置为：初始 94 °C 预变性 5 min；随后进行 35 个循环，每个循环包括 94 °C 变性 30 s、特定温度退火 60 s（退火温度根据引物 GC 含量计算确定）和 72 °C 延伸 60 s；最后 72 °C 终延伸 10 min。扩增产物通过琼脂糖凝胶电泳进行验证，凝胶制备方法为：将 0.2 g 琼脂糖加入 20 mL TBE 缓冲液，加热溶解后冷却备用。电泳时使用 5000 bp DNA Marker 作为分子量参照。

将 cDNA 稀释适当倍数后，采用 TB Green® Premix ExTaq™ II 试剂盒进行实时荧光定量 PCR（RT-qPCR）检测。反应体系包含 12.5 μ L 2 $\times$ TB Green Premix ExTaq II，1 μ L 正向引物和 1 μ L 反向引物，2 μ L cDNA 模板，补充

ddH₂O 至 25 μ L。扩增程序分两步：第一步 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s；第二步进行 40 个循环，每个循环包括 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s 和退火延伸 30 s；95 $^{\circ}$ C 5s，60 $^{\circ}$ C 30 s。

4.3.5 数据分析

同 2.3.5。

4.4 结果与讨论

4.4.1 微藻基 CQDs 对小球藻抗氧化酶活的影响

如图 4-1 c 所示，添加 CQDs 后，小球藻的 MDA（丙二醛）含量均呈现一定程度的降低，表明 CQDs 的添加有效抑制了小球藻的脂质过氧化反应^[112]，从而减少了细胞膜的氧化损伤。结合图 4-1 a 和 4-1 b 的分析，可以发现不同光照条件下 CQDs 的作用机制存在显著差异。在光照不足的条件下，添加 M-CQDs 和 S-CQDs 并不能显著促进小球藻生物量和油脂的积累，可能是因为低光照条件下 CQDs 的光学特性无法充分发挥作用，在 5000 lx 的中等光照强度下，M-CQDs 通过显著提高 CAT（过氧化氢酶）和 SOD（超氧化物歧化酶）等抗氧化酶的活性，有效抑制了细胞内活性氧（ROS）的积累，从而降低了脂质过氧化水平。这一结果表明，M-CQDs 在中等光照条件下主要通过增强抗氧化防御系统来保护细胞免受氧化损伤。

然而，在 8000 lx 的高光照强度下，小球藻的 MDA 含量较低，尤其是添加 S-CQDs 后，虽然 CAT 活性显著低于对照组，但 MDA 含量与对照组基本持平。这一现象表明，S-CQDs 在高光照条件下通过其他机制降低了细胞的过氧化水平，而不仅仅依赖于抗氧化酶活性的提升。1.4.2 中提到 Li 等的研究表明，红光碳点被细胞吸收后，能够促进叶绿体光合作用中的电子传递，从而减少光系统 II（PSII）的过度激发和 ROS 的产生。这也是 S-CQDs 在高光照条件下效果优于 M-CQDs 的重要原因之一。

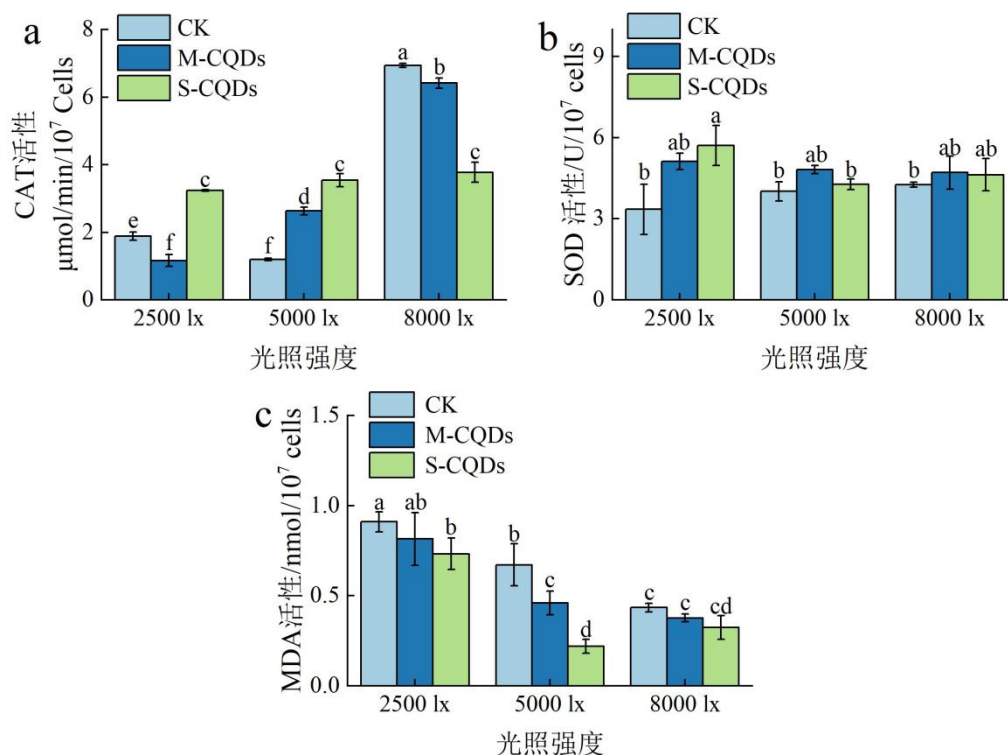


图 4-1 不同光照强度下小球藻 CAT 活性 (a)、SOD 活性 (b) 与 MDA 含量 (c)
Fig.4-1 CAT activity (a), SOD activity (b) and MDA content (c) of *Chlorella* under different light intensities

如图 4-2 a 所示, 添加 H-CQDs 和 HC-CQDs 后, 小球藻在不同光照条件下的 CAT 活性变化显著。试验结果显示, 除 5000 lx 光照条件下 CAT 活性略有提升外, 其余光照条件下 (如 2500 lx 和 8000 lx), 添加 CQDs 后对小球藻 CAT 酶活性并未表现出明显的促进作用。这一现象可能表明, H-CQDs 和 HC-CQDs 对 CAT 活性的调控作用具有光照依赖性, 且在中等光照强度下可能通过其他机制间接影响抗氧化酶的活性。

进一步观察图 4-2 b 可以发现, 在所有光照条件下, 添加 H-CQDs 和 HC-CQDs 均导致小球藻 SOD 活性降低。这一结果与 CAT 活性的变化趋势一致, 表明 H-CQDs 和 HC-CQDs 并未通过直接增强抗氧化酶活性来抑制氧化应激。然而, 结合图 4-2 c 的 MDA 含量数据可以发现, 尽管 SOD 活性降低, 但各光照条件下小球藻的 MDA 含量均显著低于对照组。这一结果表明, H-CQDs 和 HC-CQDs 通过其他途径降低了小球藻的整体氧化应激水平, 可能通过增强其他抗氧化系统 (如谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-PX、抗坏血酸-谷胱甘肽循环) 来维持氧化还原平衡, 从而减少了脂质过氧化反应对细胞膜的损伤^[115]。

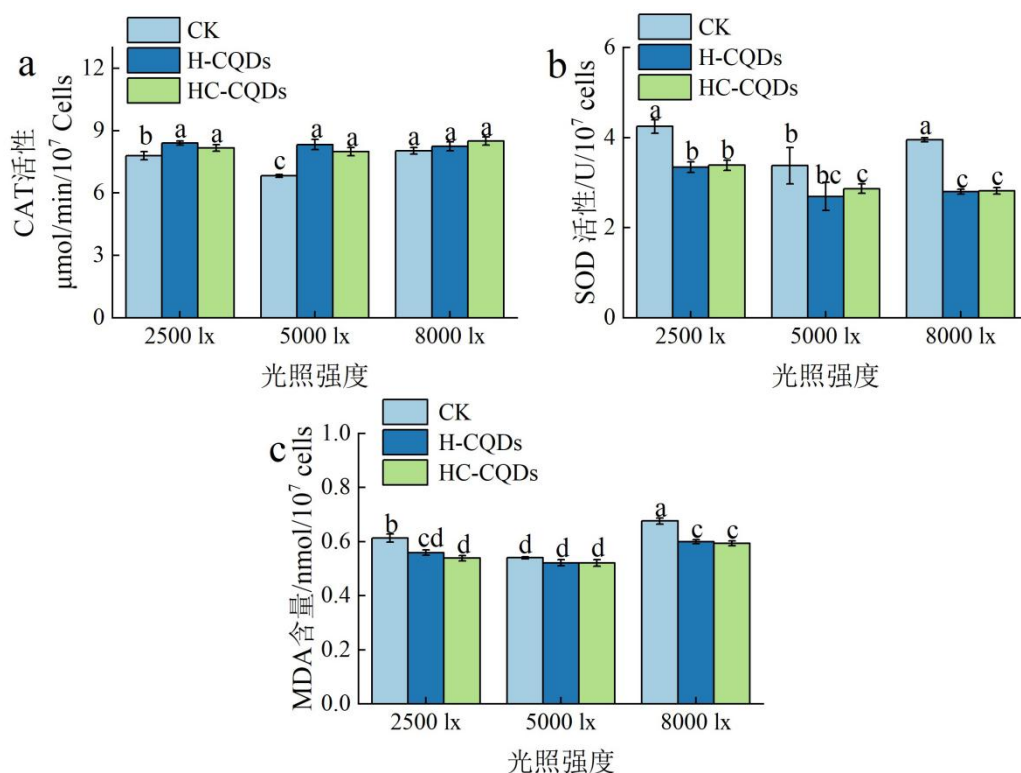


图 4-2 不同光照强度下小球藻 CAT 活性 (a)、SOD 活性 (b) 与 MDA 含量 (c)
Fig.4-2 CAT activity (a), SOD activity (b) and MDA content (c) of *Chlorella* under different light intensities

4.4.2 总 RNA 的提取检测

提取小球藻总 RNA 后进行超微量核酸分析仪检测, 结果如表 4-1 所示, 所有样本的 RNA 浓度均在 $180 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 以上, 且 A260/A280 比值均在 2.02-2.14 内, 表明 RNA 纯度较好。

表 4-1 RNA 浓度
Table 4-1 RNA concentration

小球藻类型	浓度/ $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$	A260/A280	A260/A230
不添加微藻基 CQDs	347.3	2.14	2.18
添加 M-CQDs	222.5	2.12	2.27
添加 S-CQDs	221.0	2.10	2.05
添加 H-CQDs	248.0	2.02	1.95
添加 HC-CQDs	186.3	2.13	2.29

4.4.3 差异表达关键酶基因 RT-qPCR 检测

结合 *Chlorella* sp. DT025 脂肪酸代谢途径、丙酮酸代谢途径以及 CO_2 固定代谢途径, 选取五个代谢关键酶基因分别是乙酰 CoA 羧化酶 (ACC) α 亚基基因、乙酰 CoA 合成酶 2 (ACS2) 基因、磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 (PEPC) 基因、苹果酸脱氢酶 (MDH) 基因以及 1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶 (RuBisCO) 大

亚基基因。以 *Chlorella* sp. DT025 的 18S rRNA 为内参基因，使用 Primer 5 软件设计引物，引物序列（表 4-2）由上海生工生物工程公司合成。

表 4-2 目的基因引物序列

Table 4-2 Primer sequences of target genes

目的基因	序列 5'-3'
18S rRNA	F-CGCGCAAATTACCCAATCCTG R-GCCCTCCAATTGATCCTCGTT
乙酰 CoA 羧化酶 (ACC) α 亚基基因	F-GCCGAGGATGCAGTCTACTC R-ACACGGAAGTTGCCCTTGAT
乙酰 CoA 合成酶 2 (ACS2) 基因	F-GCCTCTGCCAAAGGTGATCT R-GGTGAGTGCAAAGGAGACGA
磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 (PEPC) 基因	F-GCTTTGTGAACTTCTTCCAGTCC R-AACACCATTTCCAGCATGTCAAG
苹果酸脱氢酶 (MDH) 基因	F-AAATCATCGTCCATCATTAGCGC R-GTCTGAGTAGTTCCTGGCGATC
1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶 (RuBisCO) 大亚基基因	F-CCCCAACAGAGACTAAAGCAAGT R-TGTACCAGTAGAAGATTCCGCAG

以 cDNA 作为模板进行 PCR 扩增，退火温度设为 54.5 °C，通过琼脂糖凝胶电泳验证引物的特异性如图 4-3，1-5 分别为乙酰 CoA 羧化酶 α 亚基基因、磷酸烯醇丙酮酸羧化酶基因、1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶大亚基基因、苹果酸脱氢酶基因、乙酰 CoA 合成酶基因，从图中可以看出所选基因约 100-200 bp，均扩增出单一且较亮的条带，说明引物特异性较好。

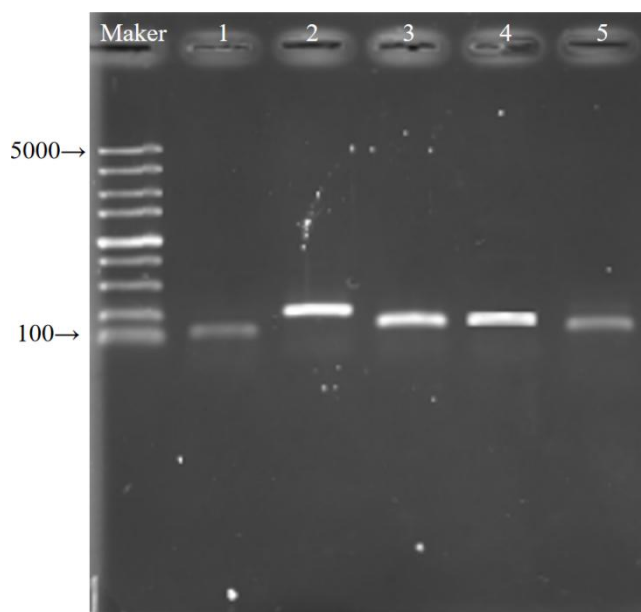


图 4-3 目的基因引物特异性扩增凝胶电泳图

Fig. 4-3 Primer-specific amplification gel electropherogram of the target gene

RT-qPCR 检测结果如图 4-4 所示。乙酰 CoA 羧化酶 (ACC) 是脂肪酸和脂质合成的关键酶, 负责催化乙酰 CoA 转化为丙二酰 CoA, 这是脂肪酸生物合成的起始步骤, 对细胞膜的构建和能量储存具有重要意义^[116]。在 M-CQDs 和 S-CQDs 处理下, 小球藻中 *acc* 基因的相对表达量分别提高了 6.99 倍和 5.38 倍, 表明这两种碳量子点的添加显著促进了细胞内脂肪酸的合成。这一结果与油脂含量的提升相一致, 进一步说明 M-CQDs 和 S-CQDs 可能通过调控 *acc* 的表达, 促进了脂质的积累, 从而为细胞提供了更多的能量储备和结构物质。

磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 (PEPC) 在碳固定和代谢过程中发挥重要作用, 能够催化磷酸烯醇丙酮酸 (PEP) 生成草酰乙酸, 参与碳固定途径, 维持细胞内碳平衡, 从而支持光合作用和细胞生长^[117]。试验结果显示, 在 M-CQDs 和 S-CQDs 处理下, *ppc* 的表达量有所下调, 这种下调可能与细胞内碳代谢途径的重新分配有关, 小球藻细胞内糖酵解效率可能得到了提升, 糖酵解效率的提升可能为细胞提供了更多的能量和代谢中间产物。然而, 在 H-CQDs 和 HC-CQDs 处理下, *ppc* 的相对表达量分别上调了 6.04 倍和 8.17 倍, 表明这两种碳量子点可能通过增强碳固定途径来促进代谢活动。这种上调可能反映了 H-CQDs 和 HC-CQDs 对碳固定效率的显著促进作用, 从而为细胞生长提供了更多的碳源。

苹果酸脱氢酶 (MDH) 在能量代谢和碳流动中扮演重要角色, 催化草酰乙酸与苹果酸之间的相互转化, 参与三羧酸循环 (TCA 循环) 和苹果酸-天冬氨酸穿梭系统, 从而支持光合作用和呼吸作用^[118]。试验结果表明, 在四种微藻基 CQDs (M-CQDs、S-CQDs、H-CQDs 和 HC-CQDs) 的处理下, *mdh* 的相对表达量分别提升了 4.16 倍、4.10 倍、3.58 倍和 5.81 倍, 说明这些碳量子点能够显著增强能量代谢相关途径的效率。*mdh* 表达量的上调可能促进了 TCA 循环的活性, 从而提高了 ATP 和 NADH 的生成效率, 为细胞生长和代谢活动提供了更多的能量支持。

1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶 (RuBisCO) 是光合作用中碳固定的关键酶, 催化 CO₂ 与 1,5-二磷酸核酮糖 (RuBP) 反应生成 3-磷酸甘油酸, 直接影响光合效率和生物量的积累^[119]。试验数据显示, 在四种微藻基 CQDs 处理下, *rbcl* 的表达量分别提高了 5.98 倍、6.70 倍、8.28 倍和 8.85 倍, 表明这些处理显著增强

了小球藻的光合作用能力。*rbcl* 表达量的显著上调进一步证实了碳量子点对光合碳固定途径的促进作用，从而提高了光合效率，促进了生物量的积累。

乙酰 CoA 合成酶 2 (ACS2) 在碳代谢中起核心作用，负责将外部乙酸转化为乙酰 CoA，为能量产生和生物合成提供前体物质^[120]。在 M-CQDs 和 S-CQDs 处理下，*acs2* 的表达量分别提升了 4.58 倍和 5.34 倍，进一步证实了这两种碳量子点对碳代谢途径的促进作用。*acs2* 表达量的上调可能增强了乙酰 CoA 的供应，从而为脂肪酸合成、TCA 循环和其他生物合成途径提供了更多的前体物质，进一步支持了细胞的生长和代谢活动。

不同微藻基碳量子点的处理对小球藻关键代谢基因的表达产生了显著影响。*acc*、*mdh*、*rbcl* 和 *acs2* 的表达量普遍上调，表明这些碳量子点能够通过促进脂肪酸合成、能量代谢和碳固定等途径，显著增强小球藻的光合作用效率和生物量积累能力。此外，*ppc* 表达量的变化反映了碳量子点对碳代谢途径的不同调控机制，进一步揭示了碳量子点在微藻代谢调控中的复杂作用。

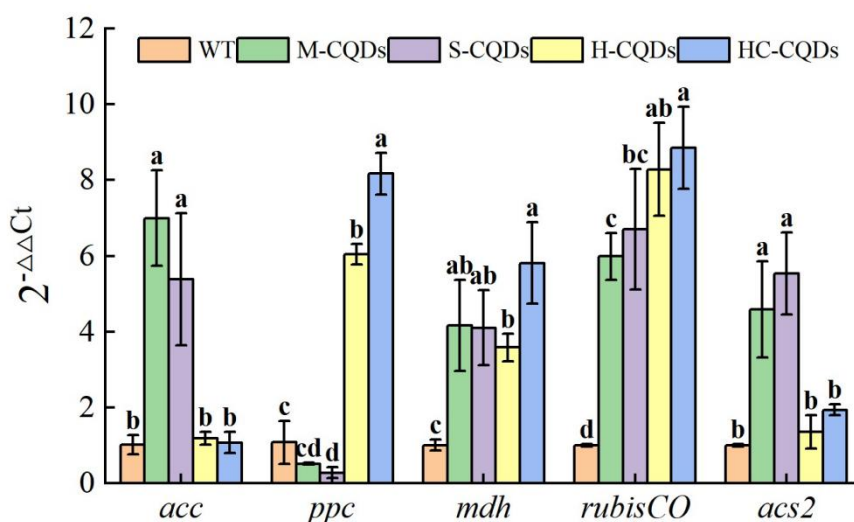


图 4-4 油脂代谢关键基因相对表达量变化

Fig. 4-4 Changes in the relative expression levels of key genes in lipid metabolism

选取 *Chlorella* sp. DT025 光合作用关键基因 *psaA*、*psbA* 以及 *lhcb*，探究微藻基 CQDs 添加后微藻光合作用变化情况。

psaA 基因位于叶绿体基因组，编码光系统 I (Photosystem I, PSI) 的核心蛋白 P700 叶绿素 a 脱辅基蛋白 (PsaA 亚基)，参与 PSI 的结构组装，负责光能吸收、电子传递（从质体蓝素到铁氧还蛋白），并与 PsaB 亚基共同形成反应中

心。图 4-5 中，M-CQDs 处理下该基因有所上调，可能是由于碳固定和脂肪酸合成的增强（*acc*、*mdh* 上调）驱动光能向 NADPH 转化需求增加，需稳定 PSI 功能。同样在 S-CQDs 添加后，高效的光能-化学能转化（*acc*、*rbcl* 显著上调）需要 PSI 活性增强，以支持 NADPH 供应，促进脂质合成通路，因此该基因有所上调。H-CQDs 与 HC-CQDs 处理后，基因表达变化不显著，生物量积累可能优先分配资源至生长相关代谢（如糖类合成），而非 PSI 活性强化。

psbA 基因位于叶绿体基因组，编码光系统 II（Photosystem II, PSII）的 D1 蛋白（反应中心蛋白），D1 蛋白是 PSII 反应中心的核心组分，参与水裂解和电子传递。M-CQDs 处理下，*psbA* 表达量明显上调（图 4-5），该结果符合 *rbcl* 表达显著上调的现象，表明碳固定活跃，可能伴随 PSII 活性增强。S-CQDs 处理下，*psbA* 基因表达量稳定，可能是由于其优化 PSII 电子传递效率，减少过度激发和 ROS 积累，降低了 D1 蛋白的损伤速率，修复需求减少。H-CQDs 与 HC-CQDs 处理下效果类似，PSII 修复需求较低，*psbA* 表达维持基础水平。

lhcb 基因位于细胞核基因组，编码捕光复合体 II（Light-Harvesting Complex II, LHCII）的蛋白（如 *Lhcb1-6*），其中 LHCII 结合叶绿素 a/b 和类胡萝卜素，捕获光能并传递至 PSII 反应中心。M-CQDs、H-CQDs 与 HC-CQDs 处理下，该基因均呈现一定程度上调（图 4-5），表明在这些微藻基碳量子点添加下，小球藻光能利用效率提升需要更多捕光蛋白以增强光捕获。而 S-CQDs 添加后，*lhcb* 基因有所下调，可能是由于高光下可能通过减少捕光复合体（避免光能吸收过量）来保护光系统。

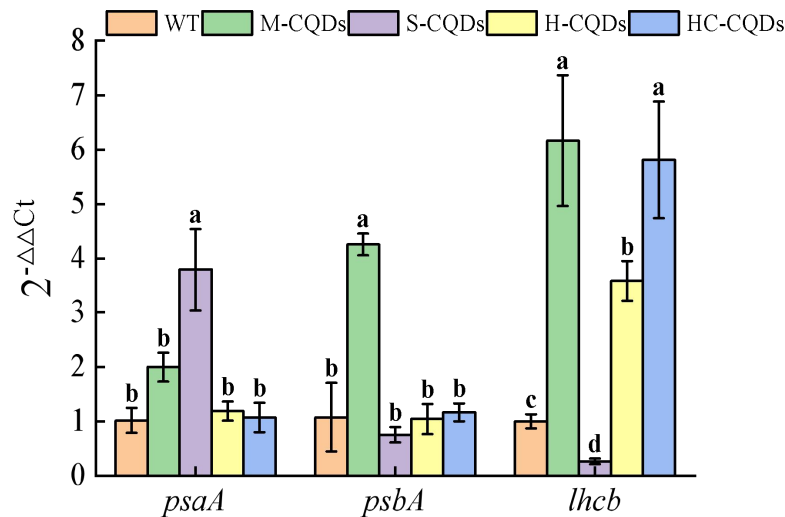


图 4-4 光合作用关键基因相对表达量变化

Fig. 4-4 Changes in the relative expression levels of key genes in photosynthesis

4.5 本章小结

本章通过整合氧化应激指标与分子生物学检测手段，系统解析了微藻基 CQDs 对小球藻生长代谢的调控网络及其光响应特性。研究采用氧化应激指标（CAT、SOD、MDA）结合关键代谢基因（*acc*、*ppc*、*mdh*、*rbcl*、*acs2*、*psaA*、*psbA* 与 *lhcb*）相对表达量分析，揭示了微藻基 CQDs 在光合碳流分配、抗氧化防御及脂质代谢中的差异化作用机制。

在中等光强（5000 lx）体系中，M-CQDs 处理组 MDA 含量降低，CAT 和 SOD 活性提升，有效清除过量 ROS。分子机制分析显示，其显著激活 ACC（*acc* 上调 6.99 倍）、MDH（*mdh* 上调 4.16 倍）、RuBisCO（*rbcl* 上调 5.98 倍）及 ACS2（*acs2* 上调 4.98 倍）表达，同步抑制 PEPC（*ppc* 下调），驱动碳流向脂肪酸合成与碳固定途径转移。高光胁迫（8000 lx）条件下，S-CQDs 使 MDA 含量较 M-CQDs 处理组更低，表现出更优的光保护性能。其同步上调 *acc*（上调 5.38 倍）、*mdh*（上调 4.10 倍）、*rbcl*（上调 6.70 倍）和 *acs2*（上调 5.34 倍）表达，促进油脂积累。H-CQDs 与 HC-CQDs 则通过增强其他抗氧化系统，稳定抗氧化体系，但脂质合成相关基因（*acc*、*acs2*）上调幅度有限（<2 倍），揭示其生长促进机制独立于脂代谢调控。基因表达量的差异性调控（*ppc* 在 M-

CQDs 与 S-CQDs 中抑制，在 H-CQDs 与 HC-CQDs 中上调 6.04-8.17 倍）证实微藻基 CQDs 在小球藻碳代谢途径中作用机制的差异性。

第五章 结论与展望

5.1 结论

本研究通过酸热法提取液体培养的 *Chlorella* sp. DT025 油脂后，利用剩余藻渣作为碳源，制备微藻基 CQDs，并通过不同外源物的掺杂改善其荧光特性，包括碳源补充（C-CQDs）、氮源掺杂（N-CQDs、NH-CQDs）、金属盐掺杂（Mg-CQDs、Ag-CQDs）以及酸调节（S-CQDs、H-CQDs、HC-CQDs）。通过对这些微藻基 CQDs 的表征和分析，以及后续将其反向添加进小球藻培养体系中，得出以下主要结论：

（1）M-CQDs 是通过水热法直接由藻渣制备的碳量子点，表现出优异的水溶性和分散性，最佳发射波长为 534 nm。通过补充柠檬酸作为辅助碳源，成功制备了 C-CQDs，其荧光特性发生了显著变化，最佳发射波长为 428 nm。通过硫酸掺杂制备的 S-CQDs 表现出独特的红光发射特性，最佳发射波长为 653 nm。通过醋酸掺杂制备的 H-CQDs 和醇热法制备的 HC-CQDs 同样具备红光发射特性，最佳发射波长为 700 nm。以上结果表明微藻残渣制备 CQDs 与外源物掺杂改性 CQDs 的可行性，其中酸调节策略在 CQDs 制备中具有较高的可控性和适用性。

（2）M-CQDs 和 S-CQDs 在添加量为 10 mg/L 时对小球藻的生长和油脂积累促进作用最为显著，该处理下小球藻细胞干重相较于未添加 CQDs 对照组分别提高了 15.67% 和 5.53%，油脂产量相较于对照组分别提高了 56.00% 和 40.48%。H-CQDs 在 5 mg/L 浓度下对细胞干重的促进作用最佳，较对照组提高了 29.62%，而在 20 mg/L 浓度下，油脂产量达到 0.95 g/L，较对照组提高了 53.23%。HC-CQDs 在 20 mg/L 浓度下表现出最佳的促进效果，小球藻细胞干重与油脂产量分别提高了 27.60% 和 40.45%。此外，不同光照强度下微藻基 CQDs 对小球藻生长及产油的影响具备显著性差异。以上结果表明 CQDs 对小球藻的作用效果表现出明显的浓度与光照依赖特性。

（3）以微藻基 CQDs 的最适浓度培养小球藻，并检测其氧化应激水平的变化，以及采用 RT-qPCR 方法对小球藻油脂合成关键基因与光合作用关键基因进

行表达量差异分析。微藻基 CQDs 的添加有效降低了小球藻 MDA 含量。M-CQDs 通过提高 CAT 和 SOD 活性降低了氧化应激水平，其余 CQDs 主要通过降低整体氧化应激水平，促进微藻生物量的积累。添加 M-CQDs 与 S-CQDs 后，小球藻中 *acc*、*mdh*、*rbcl* 与 *acs2* 相对表达量提升 4.10~6.99 倍，*ppc* 相对表达量有所下调，显著增强小球藻的碳固定效率和油脂积累能力。添加 H-CQDs 与 HC-CQDs 后，*ppc* 相对表达量分别上调了 6.04 和 8.17 倍，反映了碳量子点对碳代谢途径的不同调控机制。以上结果表明微藻基 CQDs “抗氧化-代谢调控”的双重作用机制，进一步揭示了碳量子点在微藻代谢调控中的复杂作用。

5.2 展望

尽管本研究通过水热法及多种掺杂策略成功制备了性能各异的微藻基 CQDs，并系统探讨了其在微藻培养中的应用潜力，但仍存在一些不足之处。未来研究可以从以下几个方面进一步优化微藻基 CQDs 的合成及其在微藻培养中的应用：

（1）调控表面化学性质：CQDs 的表面化学性质对其光学性能和生物相容性具有重要影响。未来可以通过寻求更多的掺杂方式，用以表面修饰或功能化改性（如引入特定官能团或聚合物）进一步优化微藻基 CQDs 的性能，以满足不同应用场景的需求。

（2）拓展微藻基 CQDs 的应用领域：微藻基 CQDs 在微藻培养中的应用潜力已得到初步验证，但其在生物柴油和其他生物能源生产中的规模化应用仍需进一步探索。此外 C-CQDs 在荧光强度方面表现出优异的性能，但其在微藻培养体系中的应用效果有限，可能更适用于荧光传感、生物成像等领域，未来研究可以进一步优化 C-CQDs 的表面修饰，以提高其在微藻培养中的适用性，同时为其在其他领域的应用提供更多可能性。

参考文献

- [1] Brennan L, Owende P. Microalgae as versatile cellular factories for valued products[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2010, 14(2): 557-577.
- [2] Cheirsilp B, Torpee S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation[J]. Bioresource Technology, 2012, 110: 510-516.
- [3] Becker E W. Microalgae as a source of protein[J]. Biotechnology Advances, 2007, 25(2): 207-210.
- [4] Gong M, Bassi A. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(8): 1396-1412.
- [5] Harwood J L, Guschina I A. The versatility of algae and their lipid metabolism[J]. Biochimie, 2009, 91(6): 679-684.
- [6] Klok A J, Lamers P P, Martens D E, et al. Edible oils from microalgae: insights in TAG accumulation[J]. Trends in Biotechnology, 2014, 32(10): 521-528.
- [7] Wang J, Chen C. Biosorbents for heavy metals removal and their future[J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(1): 44-57.
- [8] You X, Yang L, Zhou X, et al. Sustainability and carbon neutrality trends for microalgae-based wastewater treatment: A review[J]. Environmental Research, 2022, 209: 112860..
- [9] Pan M, Su Y, Zhu X, et al. Bioelectrochemically assisted sustainable conversion of industrial organic wastewater and clean production of microalgal protein[J]. Resources, Conservation and Recycling, 2021, 168: 105441.
- [10] Chen C, Zhao X, Yen H, et al. Microalgae-based carbohydrates for biofuel production[J]. Biochemical Engineering Journal, 2013, 78: 1-10.
- [11] 杨沛珊, 于艳卿, 李超峰, 等. 硅胶固定的褐藻渣对重金属 Cu^{2+} 吸附特征研究[J]. 海洋科学, 2011, 35(02): 44-51.
- [12] Li Y, Chen Y, Wu J. Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review[J]. Applied Energy, 2019, 240: 120-137.
- [13] 贺诗欣, 李瑞祥, 陈以颀, 等. 一种藻渣生物炭及其制备方法与应用 : CN201810408892.7

[P]. 2018.04.27.

- [14] Okoro V, Azimov U, Munoz J, et al. Microalgae cultivation and harvesting: Growth performance and use of flocculants - A review[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2019,115:109364.
- [15] Mao B D, Vadiveloo A, Qiu J, et al. Artificial photosynthesis: Promising approach for the efficient production of high-value bioproducts by microalgae[J]. Bioresource Technology, 2024, 401: 130718.
- [16] Xie Y, Khoo K S, Chew K W, et al. Advancement of renewable energy technologies via artificial and microalgae photosynthesis[J]. Bioresource Technology, 2022, 363: 127830.
- [17] Patil L, Kaliwal B. Effect of CO₂ Concentration on Growth and Biochemical Composition of Newly Isolated Indigenous Microalga *Scenedesmus bajacalifornicus* BBKLP-07[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2017, 182(1): 335-348..
- [18] Su Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment[J]. Science of The Total Environment, 2021,762:144590.
- [19] Zhang B, Cai C, Zhou Y. Iron and nitrogen regulate carbon transformation in a methanotroph-microalgae system[J]. Science of The Total Environment, 2023,904:166287.
- [20] Li T, Wan L, Li A, et al., Responses in growth, lipid accumulation, and fatty acid composition of four oleaginous microalgae to different nitrogen sources andconcentration[J]. Chinese journal of oceanology and limnology, 2013, 31 (6):1306-1314.
- [21] Qie F, Zhu J, Rong J, et al. Biological removal of nitrogen oxides by microalgae, a promising strategy from nitrogen oxides to protein production[J]. Bioresource Technology, 2019, 292: 122037.
- [22] Xin L, Hong-Ying H, Ke G, et al., Effects of different nitrogen and phosphorusconcentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of afreshwater microalga *Scenedesmus* sp[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(14):5494-5500.
- [23] Fu L, Cui X, Li Y, et al., Excessive phosphorus enhances *Chlorella* regularis lipidproduction under nitrogen starvation stress during glucose heterotrophic cultivation[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 330: 566-572.

- [24] Lobus N V, Kulikovskiy M S. The Co-Evolution Aspects of the Biogeochemical Role of Phytoplankton in Aquatic Ecosystems: A Review[J]. Biological Science, 2023, 12(1):92.
- [25] Leong Y K, Chang J S. Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms[J]. Bioresource Technology, 2020, 303:122886.
- [26] Mata T M, Martins A A, Caetano N S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review [J]. Renewable and sustainable energy reviews, 2010, 14(1): 217-232.
- [27] Khoeyi Z A, Seyfabadi J, Ramezanpour Z. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*[J]. Aquaculture International, 2012, 20(1): 41-49.
- [28] Maltsev Y, Maltseva K, Kulikovskiy M, et al. Influence of Light Conditions on Microalgae Growth and Content of Lipids, Carotenoids, and Fatty Acid Composition[J]. Biological Science, 2021, 10(10):1060.
- [29] Atta M, Idris A, Bukhari A, et al. Intensity of blue LED light: A potential stimulus for biomass and lipid content in fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*[J]. Bioresource Technology, 2013, 148: 373-378.
- [30] Chisti Y. Constraints to commercialization of algal fuels[J]. Journal of Biotechnology, 2020, 324: 134-147.
- [31] Juneja A, Ceballos R M, Murthy G S. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: a review[J]. Energies, 2019, 12(17): 3280.
- [32] Rashid N, Rehman M S U, Han J I. Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan[J]. Process Biochemistry, 2019, 78: 122-126.
- [33] Khan I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: properties, applications and toxicities[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2019, 12(7): 908-931.
- [34] Zhang Y, Nayak T R, Hong H, et al. Graphene: a versatile nanoplatform for biomedical applications[J]. Nanoscale, 2020, 12(6): 3876-3899.
- [35] Singh V, Joung D, Zhai L, et al. Graphene based materials: past, present and future[J]. Progress in Materials Science, 2021, 116: 100736.

- [36] Li H, Kang Z, Liu Y, et al. Carbon nanodots: synthesis, properties and applications[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2020, 28(15): 4207-4215.
- [37] 冯李乐,白春花,郭亚甜,等.基于氮掺杂荧光碳量子点探针的制备及其应用[J].*化工科技*,2021,29(06):28-33+49.DOI:10.16664/j.cnki.issn1008-0511.2021.06.011.
- [38] Almufarij R S, Mohamed M E. Green Synthesis of a Carbon Quantum Dots-Based Superhydrophobic Membrane for Efficient Oil/Water Separation[J]. *Materials (Basel)*, 2023,16(15) : 5456.
- [39] 王芸,李春兴,胡晓熙.高荧光性能碳量子点的绿色合成及其条件优化[J].*河南化工*, 2023, 40(04): 28-31.
- [40] Sahu S, Behera B, Maiti T K, et al. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents[J]. *Chemical Communications*, 2021, 57(18): 2317-2320.
- [41] Liu M L, Chen B B, Li C M, et al. Improved hydrothermal synthesis of amino-functionalized fluorescent carbon dots for bioimaging applications[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(15): 17870-17879.
- [42] Rawat J, Sharma H, Dwivedi C. Microwave-assisted synthesis of carbon quantum dots and their integration with TiO₂ nanotubes for enhanced photocatalytic degradation[J]. *Diamond and Related Materials*, 2024,144:111050.
- [43] 李钊.高荧光碳量子点的制备及其应用研究[D].中国人民解放军军事医学科学院,2015.
- [44] Pramanik A, Das G K, Karak N. Microwave-assisted rapid synthesis of luminescent carbon quantum dots from sucrose and phosphoric acid: a green approach for surface functionalization and fluorescence enhancement[J]. *Journal of Materials Chemistry C*, 2021, 9(10): 3307-3322.
- [45] Suslick K S, Price G J. Applications of ultrasound to materials chemistry[J]. *Annual Review of Materials Science*, 2020, 50(1): 295-318.
- [46] Kang Z, Lee S T. Carbon dots: advances in nanocarbon applications[J]. *Nanoscale*, 2020, 12(15): 17870-17879.
- [47] Manikandan V, Lee N Y. Green synthesis of carbon quantum dots and their environmental

- p applications[J]. Environmental Research, 2022,212:113283.
- [48] Tao H, Yang K, Ma Z, et al. In vivo NIR fluorescence imaging, biodistribution, and toxicology of photoluminescent carbon dots produced from carbon nanotubes and graphite[J]. Small, 2012, 8: 281-290.
- [49] Zhai Z, Dong X, Qi H, et al. Carbon Quantum Dots with High Photothermal Conversion Efficiency and Their Application in Photothermal Modulated Reversible Deformation of Poly(N-isopropylacrylamide) Hydrogel[J]. ACS Applied Bio Materials, 2023,6(9):3395-3405.
- [50] Chen B, Li F, Li S, et al. Large scale synthesis of photoluminescent carbon nanodots and their application for bioimaging[J]. Nanoscale, 2013, 5(5): 1967-1971.
- [51] Jiang M, Sun Y, Chen M, et al. Multicolor luminescence of carbon Dots: From mechanisms to applications[J]. Chemical Engineering Journal, 2024,496:153761.
- [52] Zhang D, Chao D, Yu C, et al. One-Step Green Solvothermal Synthesis of Full-Color Carbon Quantum Dots Based on a Doping Strategy[J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2021,12(37):8939-8946.
- [53] Ozyurt D, Kobaisi M A, Hocking R K, et al. Properties, synthesis, and applications of carbon dots: A review[J]. Carbon Trends, 2023, 12: 100276.
- [54] Wang H, Sun P, Cong S, et al. Nitrogen-Doped Carbon Dots for "green" Quantum Dot Solar Cells[J]. Nanoscale Research Letters, 2016, 11(1): 27.
- [55] Zhao Q, Han R, Marshall A R, et al. Colloidal Quantum Dot Solar Cells: Progressive Deposition Techniques and Future Prospects on Large-Area Fabrication[J]. Advanced Materials, 2022, 34(17): e2107888.
- [56] Huang D, Chen Y, Cheng M, et al. Carbon Dots-Decorated Carbon-Based Metal-Free Catalysts for Electrochemical Energy Storage[J]. Small, 2021, 17(4): e2002998.
- [57] Shen W S, Liu Y, Grater L, et al. Thickness-variation-insensitive near-infrared quantum dot LEDs[J]. Science Bulletin (Beijing), 2023, 68(23): 2954-2961.
- [58] Di X, Geng C, Guo C, et al. Enhanced Cherenkov imaging for real-time beam visualization by applying a novel carbon quantum dot sheeting in radiotherapy[J]. Medical Physics, 2023, 50(2): 1215-1227.

-
- [59] Lu X, Zhang Z, Xia Q, et al. Glucose functionalized carbon quantum dot containing organic radical for optical/MR dual-modality bioimaging[J]. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 2018, 82: 190-196.
- [60] Korupalli C, You K L, Getachew G, et al. Engineering the Surface of Ti_3C_2 MXene Nanosheets for High Stability and Multimodal Anticancer Therapy[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(2): 304.
- [61] Jin X, Che R, Yang J, et al. Activated Carbon and Carbon Quantum Dots/Titanium Dioxide Composite Based on Waste Rice Noodles: Simultaneous Synthesis and Application in Water Pollution Control[J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2022, 12(3): 472.
- [62] Nemiwal M, Zhang T C, Kumar D. Graphene-based electrocatalysts: Hydrogen evolution reactions and overall water splitting[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2021, 46(41): 21401-21418.
- [63] Hadian-Dehkordi L, Rezaei A, Ramazani A, et al. Amphiphilic Carbon Quantum Dots as a Bridge to a Pseudohomogeneous Catalyst for Selective Oxidative Cracking of Alkenes to Aldehydes: A Nonmetallic Oxidation System[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(28): 31360-31371.
- [64] Lidong Y, Chaoshuai H U, Junxia C, et al. Preparation of Coal-based Carbon Quantum Dots and Determination of Cr(VI) in Environmental Water[J]. *Chinese Journal of Luminescence*, 2023, 44(12): 2265-2276.
- [65] Kamal A, Hong S, Ju H. Carbon Quantum Dots: Synthesis, Characteristics, and Quenching as Biocompatible Fluorescent Probes[J]. *Biosensors (Basel)*, 2025, 15(2): 99.
- [66] Mohanta T, Behuria H G, Sahu S K, et al. Green synthesis of N,S-doped carbon dots for tartrazine detection and their antibacterial activities[J]. *Analyst*, 2023, 148(22): 5597-5604.
- [67] Al-Ghamdi S A, Darwish A A A, Hamdalla T A, et al. Biological synthesis of novel carbon quantum dots using *Halimeda opuntia* green algae with improved optical properties and electrochemical performance for possible energy storage applications[J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2023, 18(5): 100102.
- [68] Das R, Bandyopadhyay R, Pramanik P. Carbon quantum dots from natural resource: A

- review[J]. *Materials Today Chemistry*, 2018, 8: 96-109.
- [69] Guo L, Zhang Y, Li W. Sustainable microalgae for the simultaneous synthesis of carbon quantum dots for cellular imaging and porous carbon for CO₂ capture[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2017, 493: 257-264
- [70] Liu S, Wu Z, Min X, et al. Synergism Variation between intracellular Glutathione, phycocyanin and SOD in microalgae by carbon quantum dot fluorescence[J]. *Spectrochimica Acta Part A-molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 2024, 310: 123833.
- [71] Zhang F, Li Y, Miao X. Quantum dot-based light conversion strategy for customized cultivation of microalgae[J]. *Bioresource Technology*, 2024, 397: 130489.
- [72] 薛仁. 基于碳量子点强化微藻光合作用及废水资源化[D]. 长春: 吉林大学, 2020.
- [73] Xue H, Dong Y, Li Z, et al. Transcriptome analysis reveals the molecular mechanisms by which carbon dots regulate the growth of *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Journal of Colloid and Interface Science* 2023, 649: 22-35.
- [74] LI D, LI W, ZHANG H, et al. Far-red carbon dots as efficient light-harvesting agents for enhanced photosynthesis [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(18): 21009-21019.
- [75] Ding H, Wei J, Zhang P, et al. Solvent-controlled synthesis of highly luminescent carbon dots with a wide color gamut and narrowed emission peak widths [J]. *Small*, 2018, 14(22): 1800612.
- [76] Dutta K, De S, Das B, et al. Development of an Efficient Immunosensing Platform by Exploring Single-Walled Carbon Nanohorns (SWCNHs) and Nitrogen Doped Graphene Quantum Dot (N-GQD) Nanocomposite for Early Detection of Cancer Biomarker[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2021, 7(12): 5541-5554.
- [77] 吕慧威,郭航,吴秋燕,等.酸热法提取山葡萄籽油工艺优化及油脂脂肪酸组成分析[J].*中国油脂*, 2018, 43(11): 5-9.
- [78] 赵沛. 碳量子点的绿色合成及其在 *Klebsiella* sp.强化畜禽废水产氢系统的示踪研究[D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2023.
- [79] Henriquez G, Ahlawat J, Fairman R, et al. Citric Acid-Derived Carbon Quantum Dots

- Attenuate Paraquat-Induced Neuronal Compromise In Vitro and In Vivo[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2022,13(16):2399-2409.
- [80] Zhang L, Wang H, Hu Q, et al. Carbon quantum dots doped with phosphorus and nitrogen are a viable fluorescent nanoprobe for determination and cellular imaging of vitamin B(12) and cobalt(II)[J]. Mikrochim Acta, 2019,186(8):506.
- [81] Wu Y, Liu Y, Yin J, et al. Facile ultrasonic synthesized NH_2^- carbon quantum dots for ultrasensitive Co^{2+} ion detection and cell imaging[J]. Talanta, 2019,205:120121.
- [82] Yu Y, Feng Y, Liu F, et al. Carbon Dots-Based Ultrastretchable and Conductive Hydrogels for High-Performance Tactile Sensors and Self-Powered Electronic Skin[J]. Small, 2023, 19(31): e2204365.
- [83] Wang Z, Zhu J, Chen L, et al. Multifunctional Gold-Silver-Carbon Quantum Dots Nano-Hybrid Composite: Advancing Antibacterial Wound Healing and Cell Proliferation[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2023, 15(34): 40241-40254.
- [84] Yang L, Wang D, Gong Y, et al. Sulfuric acid induced-synthesis coupled with ethanol extraction-water precipitation purification method for orange fluorescent carbon dots with dual-emission: Application for methyl blue detection and cell imaging[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2023,286:121963.
- [85] Zhang J, Deng J, Zheng J, et al. Organic acid-induced triple fluorescent emission carbon quantum dots identification of distilled liquor[J]. Food Chemistry, 2023,422:136080.
- [86] El-said W A, Akhdhar A, Al-bogami A S, et al. Design and green synthesis of carbon Dots/Gold nanoparticles Composites and their applications for neurotransmitters sensing based on emission Spectroscopy[J]. Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2025, 327: 125402.
- [87] 张正伟, 彭可睿, 陈建秋, 等. 生物质基碳量子点的制备及其光谱性质研究[J]. 生物质化学工程, 2014, 48(3): 30-35.
- [88] Zhao J, Zhang Y, Yan X, et al. Investigation of UV-vis spectra of azobenzene containing carboxyl groups[J]. The Journal of Molecular Modeling, 2021, 27(3): 79.
- [89] Shan D, Hsieh J T, Bai X, et al. Citrate-Based Fluorescent Biomaterials[J]. Advanced

- Healthcare Materials, 2018, 7(18): e1800532.
- [90] Smith J, Johnson R, Brown T. The effect of nitrogen doping on the surface chemistry and optical properties of carbon quantum dots[J]. Journal of Materials Chemistry C, 2020, 8(15): 5123-5131.
- [91] Can V, Onat B, Cirit E S, et al. Metal-Enhanced Fluorescent Carbon Quantum Dots via One-Pot Solid State Synthesis for Cell Imaging[J]. ACS Appl Bio Mater, 2023, 6(5): 1798-1805.
- [92] Li H, Sun C, Ali M, et al. Sulfated Carbon Quantum Dots as Efficient Visible-Light Switchable Acid Catalysts for Room-Temperature Ring-Opening Reactions[J]. Angewandte Chemie International Edition in English, 2015, 54(29): 8420-8424.
- [93] Hou M, Xia B, Qu R, et al. Preparation of the double cross-linking carbon dots-polyvinyl alcohol-carboxymethyl cellulose composite film for food active packaging application[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 273(Pt 2): 132939.
- [94] Guo T, Wang X, Hong X, et al. Modulation of the binding ability to biomacromolecule, cytotoxicity and cellular imaging property for ionic liquid mediated carbon dots[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2022, 216: 112552.
- [95] Krishnaiah P, Atchudan R, Perumal S, et al. Utilization of waste biomass of *Poa pratensis* for green synthesis of n-doped carbon dots and its application in detection of Mn^{2+} and Fe^{3+} [J]. Chemosphere, 2022, 286(Pt 2): 131764.
- [96] Tian T, Zhong Y, Deng C, et al. Brightly near-infrared to blue emission tunable silver-carbon dot nanohybrid for sensing of ascorbic acid and construction of logic gate[J]. Talanta, 2017, 162: 135-142.
- [97] Anderson R, Taylor S, Martinez L. Dual effects of carbon quantum dots on microalgae: Growth promotion at low concentrations and toxicity at high concentrations[J]. Environmental Science: Nano, 2021, 8(6): 1678-1689.
- [98] Song C, Liu Z, Wang C, et al. Different interaction performance between microplastics and microalgae: The bio-elimination potential of *Chlorella* sp. L38 and *Phaeodactylum tricornutum* MASCC-0025[J]. Science of the Total Environment, 2020, 723: 138146.
- [99] 王海英, 符茹, 黄宝祥. 基于尼罗红荧光染色的小球藻脂质快速检测方法研究[J]. 中国油

- 脂, 2012, 37(3): 78-81.
- [100] 潘贞珍, 郑树芳, 贺鹏, 等. 不同油梨种质资源果实脂肪酸分析及评价[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(17): 133-144.
- [101] Anderson A, Kumar M V, Gavurova B, et al. Optimizing engine performance and reducing emissions of greenhouse gases through spirulina microalgae and nano-additive blends[J]. Environmental Research, 2023,231(Pt 1):115958.
- [102] Hossain N, Mahlia T, Saidur R. Latest development in microalgae-biofuel production with nano-additives[J]. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 2019, 12: 125.
- [103] Zhang Y, Li X, Wang Z, et al. Carbon quantum dots enhance photosynthesis and lipid synthesis in microalgae by interacting with intracellular metabolic pathways[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2021, 9(15): 5321-5331.
- [104] 欧阳峥嵘,温小斌,耿亚红,等.光照强度、温度、pH、盐度对小球藻(*Chlorella*)光合作用的影响[J].武汉植物学研究, 2010, 28(1):7.
- [105] Bialon J, Rath T. Growth rates and photon efficiency of *Chlorella vulgaris* in relation to photon absorption rates under different LED-types[J]. Algal Research, 2018,31:204-215.
- [106] Chen X, Wang Y, Liu H, et al. Toxicity of surface functional groups on carbon-based nanomaterials to *Chlorella vulgaris*: Mechanisms of growth inhibition and metabolic suppression[J]. Environmental Science & Technology, 2022, 56(8): 4987-4996.
- [107] 张洋, 刘杰, 陈峰. 纳米材料调控微藻碳流分配促进油脂合成的研究进展[J]. 生物工程学报, 2021, 37(5): 1685-1698.
- [108] 刘欢, 王一同, 郭璇. 蛋白核小球藻原位催化制备生物柴油的研究[J]. 当代化工研究, 2024, (6): 162-164.
- [109] Lee C G, Kang D H, Lee D B, et al. Pretreatment for simultaneous production of total lipids and fermentable sugars from marine alga, *Chlorella* sp. [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2013, 171: 1143-1158.
- [110] 侯新星, 田如男. 有机酸对铜绿微囊藻生长及光合色素的影响[J]. 生物学杂志, 2021, 38(4): 65-70.
- [111] 李明, 王芳, 张伟. 碳量子点对微藻生长及代谢物积累的影响及其氧化应激调控机制

- [J]. 环境科学与技术, 2022, 45(3): 112-121.
- [112] Li F, Liang Z, Zheng X, et al. Toxicity of nano-TiO₂ on algae and the site of reactive oxygen species production [J]. Aquatic Toxicology, 2015, 158: 1-13.
- [113] Smith J, Johnson R, Brown T. Nanoparticles enhance non-enzymatic antioxidant accumulation and reduce oxidative stress in plant cells[J]. Journal of Nanobiotechnology, 2021, 19(1): 45.
- [114] Anderson L, Taylor M, Wilson K. Nanomaterial interactions with cell membranes: Stabilization and reduction of lipid peroxidation[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2020, 14(6): 7123-7135.
- [115] 张彦婷,范晓蕾,李潇萍,等.紫外诱变筛选耐氧性 *Chlamydomonas moewusii* 产氢藻株[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2011, 39(05): 149-153.
- [116] Huang F C, Do Y Y, Huang P L. Genomic organization of a diverse ACC synthase gene family in banana and expression characteristics of the gene member involved in ripening of banana fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(11): 3859-3868
- [117] Izui K, Matsumura H, Furumoto T, et al. Phosphoenolpyruvate carboxylase: a new era of structural biology[J]. Annual Review of Plant Biology, 2004, 55: 69-84.
- [118] Fermaintt C S, Wacker S A. Malate dehydrogenase as a multi-purpose target for drug discovery[J]. Essays in Biochemistry, 2024, 68(2): 147-160.
- [119] Bolay,Paul.,Schlüter,Susan.,et al. The transcriptional regulator RbcR controls ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rbcL) genes in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. The New phytologist, 2022, 235(2): 432-445.
- [120] Avidan O, Pick U. Acetyl-CoA synthetase is activated as part of the PDH-bypass in the oleaginous green alga *Chlorella desiccata* [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(22): 7287-7298.

附录

表 1 试验试剂表

试剂名称	规格	生产厂家
葡萄糖	AR	生工
硝酸钾	AR	沪试
氯化铵	AR	沪试
三水磷酸氢二钾	AR	生工
EDTA·2Na	AR	生工
七水硫酸锌	AR	生工
氯化钙	AR	沪试
四水氯化锰	AR	生工
七水硫酸亚铁	AR	沪试
钼酸铵	AR	麦克林
钼酸钠	AR	沪试
五水硫酸铜	AR	沪试
六水氯化钴	AR	麦克林
硫酸钴	AR	麦克林
氯化钠	AR	生工
磷酸二氢钾	AR	生工
硫酸镁	AR	沪试
碳酸氢钠	AR	生工
琼脂粉	AR	生工
盐酸	AR	沪试
硫酸	AR	沪试
醋酸	AR	麦克林
氢氧化钠	AR	麦克林
甲醇	AR	生工
氯仿	AR	沪试
总 RNA 提取试剂盒	/	TRAN
反转录试剂盒	/	TaKaRa
荧光定量试剂盒	/	TaKaRa
10×TBE	/	生工
6×Loading Buffer	/	生工

表 2 试验仪器设备表

试验设备	生产厂家
立式高压蒸汽灭菌锅	上海申安医疗器械厂
超净工作台	浙江孚夏医疗科技有限公司
电热鼓风干燥箱	上海力辰科技有限公司
光照培养箱	上海力辰科技有限公司
紫外可见分光光度计	上海美普达仪器有限公司
电磁炉	九阳股份有限公司
微波炉	九阳股份有限公司
电子天平	上海力辰科技有限公司
冰箱	海尔集团公司
高速离心机	湖南湘仪实验仪器开发有限公司
聚四氟乙烯高压反应釜	苏州晟华仪器科技
冷冻高速离心机	大龙兴创实验仪器股份公司
荧光分光光度计	日立有限公司
紫外可见吸收光谱仪	日本岛津有限公司
安捷伦 GC 8860 气相色谱仪	安捷伦科技有限公司
X 射线衍射仪	布鲁克科技有限公司
PCR 仪	伯乐生命医学产品(上海)有限公司
CFX96 荧光定量 PCR 检测仪	伯乐生命医学产品有限公司
电泳仪	伯乐生命医学产品(上海)有限公司
凝胶成像仪	伯乐生命医学产品(上海)有限公司
透射电镜	赛默飞世尔科技公司

攻读学位期间发表的学术论文目录

- [1] **杨勇**, 何帮翔, 张琴, 吴晓龙, 李艳宾. 微藻基碳量子点制备及其调控微藻生长与油脂积累研究. 中国油脂 (在投)
- [2] Zhengsheng Shi, Xin Tan, Yanbin Li*, Yequan Sheng, Qin Zhang, Jialu Xu, **Yong Yang**, A novel fungal-algal coupling system for slaughterhouse wastewater treatment and lipid production, Bioresource Technology, 2023, 387: 129585.

致谢

时光荏苒，三年的研究生学习生涯即将画上句号。在此，我谨向所有给予我帮助和支持的老师、同学、家人和朋友致以最诚挚的谢意。

首先，我要衷心感谢我的导师李艳宾教授。从论文选题到框架搭建，从研究方法到数据分析讨论，都离不开您都给予我悉心的指导和宝贵的建议。刚进入研究生阶段，对陌生的课题感到迷茫时，您为了指明了研究方向，并为我推荐了大量经典文献和最新研究成果，指导我如何进行高效的文献阅读和整理。在材料合成时，您鼓励我不能固化思维，要大胆创新，勇于探索新的方向和方法。数据处理时，您教会了我从多个角度去看待结果，活学活用。在学术研究上，您是一位博学的严师，给予我悉心指导，在平时生活中您又是一位平易近人的长者，在日常的小事中能感受到您对学生的关心和帮助。在此，我再次向李老师表示衷心的感谢，愿李老师桃李满天下，学术之树常青。

感谢“309 大家庭”的每位老师，三年来，您们在一次次的组会中帮助了我在本不熟悉的课题中逐步探索，尤其感谢何帮翔老师和盛烨泉老师在科研方向和论文写作过程中给予我的指导和帮助，在此也祝愿他们工作顺心，事事顺意。

感谢我的同门师兄师姐、师弟师妹们，感谢你们在科研道路上与我并肩作战，共同探讨学术问题，分享科研经验。你们的陪伴和支持，让我在枯燥的科研生活中感受到了温暖和力量。

最后，我要特别感谢我的家人。你们是我前进的动力和坚强的后盾。无论我遇到什么困难和挫折，你们始终站在我身后，给予我鼓励和安慰。你们的爱让我敢于去选择自己的人生道路。

研究生阶段的学习生活即将结束，但求知的道路永无止境。我将带着老师们的教诲、同学们的友谊、家人们的期望，继续前行。

再次感谢所有给予我帮助和支持的人！

杨勇

2025 年 5 月 15 日