

# 微藻固碳光合作用强化策略及展望

毛炜炜<sup>1</sup>, 张磊<sup>2</sup>, 尹庆蓉<sup>1</sup>, 李鹏程<sup>1</sup>, 胡毡<sup>1</sup>, 宋春风<sup>1</sup>

(1. 天津大学环境科学与工程学院, 天津 300350; 2. 一汽丰田汽车有限公司, 天津 300350)

**摘要:**随着工业技术的飞速发展和化石能源的大量使用, CO<sub>2</sub>排放量逐年增加, 其引起的全球变暖是全球环境和经济领域最关注的话题之一。CO<sub>2</sub>捕集利用与封存技术(CCUS)是我国实现碳达峰、碳中和目标的关键技术, 对我国减少 CO<sub>2</sub>排放、构建生态文明具有重大意义。微藻具有生长速度快、对极端环境适应性强、生产成本低等优点, 其介导的 CCUS 技术能吸收固定 CO<sub>2</sub> 并将其转化为高附加值产品。该过程中微藻种类对确定 CO<sub>2</sub> 固定效率和生物质产量起至关重要的作用。目前许多综述性研究都集中在利用微藻进行碳捕集、利用和储存方面, 鲜见关于提高微藻碳捕集效率的最新策略相关综述。基于微藻固碳技术的发展现状, 系统讨论了微藻的光合作用和固碳机理。回顾了微藻菌株固定 CO<sub>2</sub> 最新进展, 重点关注用于燃煤烟气的微藻改良和改进。全面总结了提高微藻光合效率的最新趋势和策略。随机诱变、适应性实验室进化和基因工程等几种修饰和改良微藻菌株的策略可用于产生理想的藻种。其中, 基因工程不仅可截断集光复合体(LHC)的天线尺寸来提高光合效率, 还可提高 Rubisco 的速度和选择性。通过向微藻培养物中添加纳米材料(NMs)进行干预策略, 可增强 CO<sub>2</sub> 在溶液中扩散/溶解, 显著提高光系统 II(PSII)中的相对电子传输速率及微藻中活性氧(ROS)水平, 从而改善对类胡萝卜素的一般光合作用。最后, 明确了该技术面临的挑战和未来发展方向, 提出应继续研发能耐受烟气的高效微藻固碳系统。

**关键词:**微藻; 全球变暖; 碳中和; 光合作用; CO<sub>2</sub>减排; 生物质生产

中图分类号: X173; X701; Q945 文献标志码: A 文章编号: 1006-6772(2022)09-0030-14

## Strategies and prospect of photosynthesis mechanism intensification of microalgae CO<sub>2</sub> fixation

MAO Weiwei<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>2</sup>, YIN Qingrong<sup>1</sup>, LI Pengcheng<sup>1</sup>, HU Zhan<sup>1</sup>, SONG Chunfeng<sup>1</sup>

(1. School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300350, China; 2. Tianjin FAW Toyota Motor Co., Ltd., Tianjin 300350, China)

**Abstract:** With the rapid development of industrial technology and the extensive use of fossil energy, the CO<sub>2</sub> emissions are increasing year by year, and the global warming it causes is one of the most concerned topics in the global environment and economy. CO<sub>2</sub> capture, utilization and storage (CCUS) is a key technology for China to achieve the goal of carbon peaking and carbon neutrality, which is of great significance for China to reduce CO<sub>2</sub> emissions and build ecological civilization. Microalgae have the advantages of fast growth rate, strong adaptability to extreme environments, and low production costs. Its mediated CCUS technology is able to absorb and fix CO<sub>2</sub> and convert it into high value-added products. In this process, the species of microalgae play a crucial role in determining CO<sub>2</sub> fixation efficiency and biomass production. At present, many review studies focus on the use of microalgae for carbon capture, utilization and storage, but there are few reviews on the latest strategies to improve the carbon capture efficiency of microalgae. Based on the development status of microalgae carbon fixation technology, the photosynthesis and carbon fixation mechanism in microalgae were systematically discussed. Then, this work reviewed recent advances in microalgal strains for CO<sub>2</sub> fixation, focusing on the improvement and modification of strains used in coal-fired flue gas. A further comprehensive summary of recent trends and strategies to improve photosynthetic efficiency in microalgae was presented. Several strategies to modify and improve microalgal strains, including random mutagenesis, adaptive laboratory evolution, and ge-

收稿日期: 2022-07-11; 责任编辑: 白娅娜 DOI: 10.13226/j.issn.1006-6772.CRU22071101

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2017YFE0127200)

作者简介: 毛炜炜(1999—), 女, 重庆涪陵人, 硕士研究生。E-mail: mwidd@163.com

通讯作者: 宋春风(1985—), 男, 河北承德人, 教授, 博士。E-mail: chunfeng.song@tju.edu.cn

引用格式: 毛炜炜, 张磊, 尹庆蓉, 等. 微藻固碳光合作用强化策略及展望[J]. 洁净煤技术, 2022, 28(9): 30-43.

MAO Weiwei, ZHANG Lei, YIN Qingrong, et al. Strategies and prospect of photosynthesis mechanism intensification of microalgae CO<sub>2</sub> fixation [J]. Clean Coal Technology, 2022, 28(9): 30-43.



移动阅读

netic engineering, can be used to generate the desirable microalgae strain. Among them, genetic engineering can not only truncate the antenna size of the light-harvesting complex (LHC) to improve photosynthetic efficiency, but also improve the velocity and selectivity of Rubisco. Strategies to intervene by adding nanomaterials (NMs) to microalgal cultures can enhance CO<sub>2</sub> diffusion/dissolution in solution, significantly increase the relative electron transport rate in photosynthetic system II (PSII) as well as reactive oxygen species (ROS) levels in microalgae, thereby improving the general response to carotenoids photosynthesis. Finally, the current challenges and future development directions of this technology were clarified, and a high-efficiency microalgae carbon sequestration system that tolerates flue gas should continue to be developed. Finally, the current challenges and future development direction of this technology were clarified. Efficient microalgae carbon fixation systems should be researched and developed that can tolerate flue gas.

**Key words:** microalgae; global warming; carbon neutrality; photosynthesis; CO<sub>2</sub> emission reduction; biomass production

## 0 引言

CO<sub>2</sub>排放量急剧上升导致全球气候变暖,成为人类迄今为止面临的最严峻的环境挑战之一<sup>[1]</sup>。2022年3月国际能源署(IEA)发表的最新报告显示,截至2021年,全球CO<sub>2</sub>排放量已增至363亿t,达到历史最高水平<sup>[2]</sup>。大气中CO<sub>2</sub>浓度增加引起地表温度持续升高,对自然环境造成不良影响,如海平面上升、冰川融化等,这些变化导致极端天气事件发生、生物物种变化<sup>[3]</sup>。如何实现CO<sub>2</sub>减排已成为当前国内外关注的焦点。

CO<sub>2</sub>捕集利用与封存技术(CCUS)作为一种重要的温室气体减排技术,是我国构建生态文明和实现可持续发展的重要技术,对实现碳达峰、碳中和目标至关重要<sup>[4]</sup>。目前已有多种碳捕获方法,如化学吸收、吸附、膜分离、微藻固碳法等。从可持续发展角度来看,微藻介导的CCUS技术由于能吸收CO<sub>2</sub>并将其转化为生物质能源,已成为现阶段资源化利用CO<sub>2</sub>和开发新能源的热门课题<sup>[5-6]</sup>。与此同时,利用微藻固碳作为一种经济可行、环保、可持续的固碳技术,应用潜力巨大<sup>[7]</sup>。

微藻由真核微藻(如硅藻、绿藻等)和原核微藻(如蓝藻等)组成,可以利用太阳能,通过光合作用将CO<sub>2</sub>转化为蛋白质、淀粉、脂类等生物质。与传统的碳捕获方法相比,微藻固碳主要有以下优势:①能直接利用太阳能,相比于物理和化学法,节省大量能源。②微藻固碳过程环境友好,代谢物中无二次污染物。③微藻生长周期短(4~10 d),光合效率高,是一般陆生植物的10~50倍<sup>[8]</sup>。④微藻是水生物,环境适应性强,可在沿海泥滩、盐碱地和沙漠中栽培,不与陆生植物争夺土壤。我国拥有广阔的海洋和泥滩等可培养微藻进行资源化利用,不但能减少大气中CO<sub>2</sub>,还能带动当地经济发展<sup>[9]</sup>。⑤微藻生物质中50%左右都是碳,其生长可消耗大量CO<sub>2</sub>,实现固定和转化发电厂或其他工业废气中

CO<sub>2</sub>的目的<sup>[10]</sup>。且城市废水和工农业废水可作为培养微藻的营养源,降低成本<sup>[11-12]</sup>。⑥微藻生物质含有丰富的脂类和碳水化合物等成分,可生产高附加值生物质产品。这些产品可用于制备食品、动物和水产养殖饲料、化妆品、药品、肥料、保健品、具有特殊用途的生物活性物质和生物燃料(包括生物柴油、生物氢、染料油、乙醇等)<sup>[13]</sup>。而其转化制备的生物燃料被认为是极具潜力替代石油的生物质资源之一<sup>[14]</sup>。

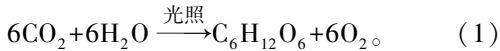
微藻捕获CO<sub>2</sub>的效率主要取决于微藻种类、培养系统和生长条件(CO<sub>2</sub>浓度、培养基、pH、温度、光照强度、溶解氧)。常用于捕获CO<sub>2</sub>的微藻种类包括螺旋藻、小球藻、栅藻、葡萄藻、裸藻、绿球藻等。研究表明,在高浓度CO<sub>2</sub>条件下养殖微藻,会大幅提高微藻的固碳效率和生物质产量,还会增加脂类积累。RODAS-ZULUAGA等<sup>[15]</sup>发现随CO<sub>2</sub>体积分数增加(0.03%~20.00%),*Scenedesmus* sp.的生物量和蛋白质随之增加。光是微藻生长和代谢的基本条件之一,为光合作用和一系列生理反应提供动力,然而微藻的光合作用效率并不随光强度或光照时间的增加而增加。通过控制适当的光强度和照射时间,可提高微藻细胞的光利用效率,如12 h:12 h或18 h:6 h的光照-黑暗时间。培养基应有足够的营养物质来提供微藻生长,C、N、P和S是微藻细胞的重要成分。此外,培养基成分不同会使微藻产生不同的目标产物,可通过改变微藻培养条件的手段调控。

2050年能源科学发展战略已明确将微藻固碳和能源利用作为中国的潜在发展方向,但利用微藻对CO<sub>2</sub>进行捕获仍面临一些挑战。笔者从影响微藻光合作用效率的主要因素出发,介绍了微藻的光合作用和固碳机理,回顾微藻固碳的研究现状并探讨了其研究制约因素,总结提高微藻光合效率的策略,包括诱变、驯化、基因工程以及纳米材料的干预等,最后,对未来微藻固碳领域的发展进行展望。

## 1 微藻光合作用固碳

### 1.1 光合作用

微藻光合作用利用光能将  $\text{CO}_2$  转化为有机化合物同时释放分子氧,是微藻固定和储存  $\text{CO}_2$  的基础<sup>[16]</sup>。研究表明,微藻的光合效率高达 12%,是固定  $\text{CO}_2$  的首选<sup>[17]</sup>。除固碳外,微藻还能合成不同生物分子,如蛋白质、碳水化合物和脂质等<sup>[18]</sup>。通常,光合作用的整体反应用式(1)描述:



真核微藻的光合作用发生在叶绿体中,但原核微藻蓝藻发生在类囊体中,这是因为原核生物中缺乏叶绿体细胞器<sup>[19]</sup>。光捕获天线复合物由光捕获色素组成,在光合作用过程中具有多种功能,其捕获光能并转移到光合反应中心以触发有氧光合作用<sup>[20]</sup>。这些天线系统将吸收的光子能量传递给叶绿素分子,并以叶绿素形式保存能量,从而为光合作用提供动力<sup>[21]</sup>。微藻细胞中的光合作用分 2 个阶段进行:光反应和暗反应阶段。光合作用的第 1 阶段光反应由光驱动,利用光能将氧化态烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸( $\text{NADP}^+$ )和二磷酸腺苷(ADP)转化为储存能量的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)和三磷酸腺苷(ATP)分子<sup>[22]</sup>。第 2 阶段暗反应不需光参与,且与第 1 阶段光反应同时发生,微

藻细胞不断消耗光反应过程中产生的 NADPH 和 ATP 固定大气中  $\text{CO}_2$  并形成碳水化合物<sup>[22]</sup>。

光合作用的核心是 2 个主要的光活性复合物(光系统 I(PSI)和光系统 II(PSII)),通过激发的叶绿素二聚体将阳光转移到电子传输链中。通过激发叶绿素 P680 驱动电子传递二聚体进入 PSI。此外,PSI 通过叶绿素 P700 转移从 PSII 接受的电子,叶绿素从光激发的天线叶绿素氧化成强烈还原的 NADPH<sup>[23]</sup>。同时,可通过光磷酸化过程中形成 ATP 储存光反应收集的能量,每对通过光合电子传递链的电子可形成 1.3 个 ATP 分子<sup>[24]</sup>。

暗反应中,藻类通过卡尔文循环(图 1)固定  $\text{CO}_2$ ,其中核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)在  $\text{CO}_2$  固定中发挥关键作用<sup>[25]</sup>。Rubisco 是双功能酶,具有催化 2 种不同反应的能力。① 羧化反应中,利用  $\text{CO}_2$  和核酮糖-1,5-二磷酸(RuBP)形成 2 个分子的 3-磷酸甘油酸(3-PGA)。3-PGA 被用于卡尔文循环中 RuBP 再生,并为微藻进一步碳代谢提供受体。3-PGA 通过微藻中 1,7-二磷酸景天庚酮糖蛋白(SBPase 蛋白)调控。② Rubisco 可作为加氧酶引起光呼吸,此时 Rubisco 利用  $\text{O}_2$  和 RuBP 产生 2-磷酸乙醇酸酯(2-PGA)和 3-PGA。2-PGA 进一步转化为乙醇酸盐。后者通过 C2 循环、甘油酸途径或通过脱羧作用代谢<sup>[26]</sup>。

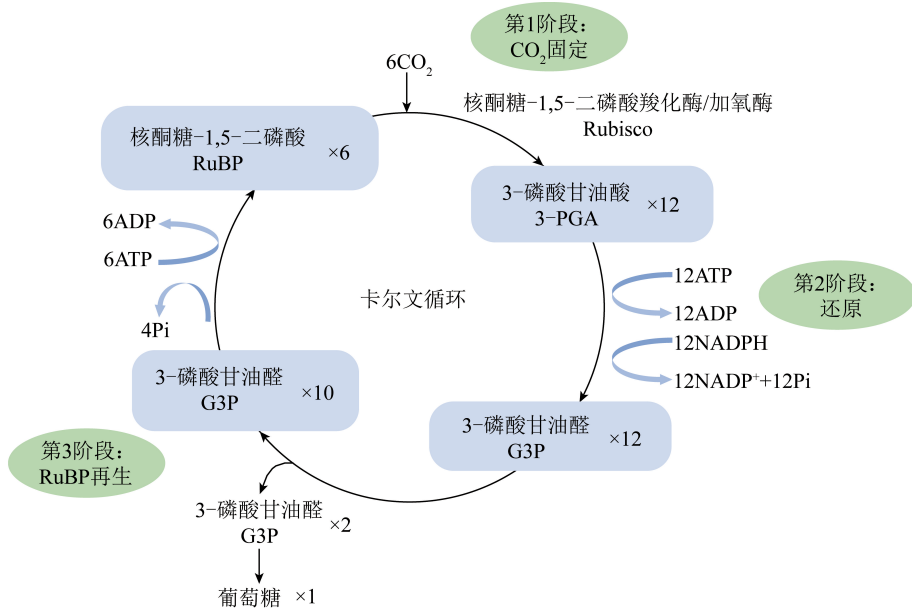


图 1 卡尔文循环反应

Fig.1 Reactions during the Calvin cycle

### 1.2 微藻中无机碳的跨膜形式

微藻通过卡尔文循环浓缩或储存  $\text{CO}_2$ ,其中光合作用需提供能源驱动这一过程,并提供电子转化

$\text{CO}_2$  为碳水化合物<sup>[27]</sup>。但对于任何进行光合作用的细胞,有效向细胞表面提供无机碳( $\text{C}_i$ )是捕获  $\text{CO}_2$  的第 1 步。微藻中无机碳的跨膜转移因  $\text{CO}_2$  浓度和



微藻种类而异。将  $\text{CO}_2$  转移到细胞中有 3 种策略: ①  $\text{HCO}_3^-$  通过膜上的载体蛋白主动转运; ② 将  $\text{HCO}_3^-$  转化为  $\text{CO}_2$ , 从而在局部富集  $\text{CO}_2$  直接扩散到细胞中; ③ 高浓度  $\text{CO}_2$  通过膜直接扩散。

由于  $\text{CO}_2$  在空气中的扩散速度快于水中, 导致其在大多数微藻生活的水生系统中浓度非常低, 是一种限制性底物<sup>[28]</sup>。因此在水中,  $\text{pH} = 7.0 \sim 8.5$  时,  $\text{CO}_2$  和  $\text{HCO}_3^-$  之间的平衡相对较慢, 难以满足微藻细胞 Rubisco 酶对  $\text{CO}_2$  的需求<sup>[26]</sup>。包括微藻在内的水生光合生物已开发出一种  $\text{CO}_2$  浓度机制 (CCM) 作为适应性机制, 以在低  $\text{CO}_2$  或无机碳 ( $\text{C}_i$ ) 条件下最大限度提高光合效率<sup>[18]</sup>。由于微藻中 Rubisco 对  $\text{CO}_2$  的亲和力较低, 因此这些微生物在没有 CCM 的情况下可能无法在水生栖息地中存活<sup>[29]</sup>。

CCM 几乎存在于所有真核微藻和蓝藻中, 是一种基于单细胞的  $\text{CO}_2$  浓缩机制, 依赖于 5 种不同的无机碳摄取系统和富含 Rubisco 的多面体羧基体<sup>[30]</sup>。这些无机碳吸收系统在细胞内形成以  $\text{HCO}_3^-$  为主的  $\text{C}_i$  库, 库中  $\text{CO}_2$  浓度是水中的 1 000 倍, 这可能是目前已知最有效的  $\text{C}_i$  吸收系统<sup>[31]</sup>。真核微藻中无机碳运输系统在叶绿体中的特征最明显, 而无机碳的主动运输机制 (如  $\text{HCO}_3^-$  或  $\text{CO}_2$ ) 可能位于内质体包膜、质膜。蓝藻和微藻 CCM 均使用能量依赖的  $\text{C}_i$  转运来增加细胞内 Rubisco 位点的  $\text{CO}_2$  浓度, 即使外部  $\text{C}_i$  浓度较低也能促进高速率的光合  $\text{CO}_2$  固定<sup>[32]</sup>。其过程分为 2 个阶段: 第 1 阶段涉及从环境中获取  $\text{C}_i$  并将  $\text{CO}_2$  和  $\text{HCO}_3^-$  输送到叶绿体; 第 2 阶段,  $\text{C}_i$  穿过类囊体膜, 通过碳酸酐酶 (CA) 还原为  $\text{CO}_2$ , 最终提高 Rubisco 附近的  $\text{CO}_2$  浓度增强光合作用速率, 同时抑制光呼吸进行。同时, CCM 还受  $\text{pH}$ 、光照、氮 (N) 和磷 (P) 浓度等因素影响。

然而, 在高  $\text{CO}_2$  浓度下, CCM 机制中的 CA 被抑制,  $\text{CO}_2$  和  $\text{HCO}_3^-$  之间的转换很弱。但  $\text{CO}_2$  可在细胞内外的  $\text{CO}_2$  渗透压作用下直接扩散到细胞质中。在细胞质中形成高浓度  $\text{CO}_2$ , 导致  $\text{CO}_2$  扩散到类囊体腔, 并通过类囊体膜中的蛋白核小管扩散到蛋白核基质被 Rubisco 固定, 将  $\text{CO}_2$  转化为有机碳。由于 Rubisco 有足够的  $\text{CO}_2$ , CA 活性显著抑制, 不发生 CCM。在不同浓度  $\text{CO}_2$  下, 通过定量实时检测聚合酶链反应 (qRT-PCR) 测量编码 CA 和 Rubisco 基因表达水平时发现,  $\text{CO}_2$  体积分数 15% 时, 蛋白核类细胞内 CAs 的转录水平显著降至 0, 而 Rubisco 表达水平显著升高<sup>[33]</sup>。因此, 简化了  $\text{CO}_2$  的转化和运输过

程, 提高了细胞内  $\text{CO}_2$  的供应效率。

### 1.3 微藻种类的影响

微藻种类直接影响  $\text{CO}_2$  固定和生物质产量。典型微藻种类对生物质产量和最大  $\text{CO}_2$  固定率参数的影响以及最佳  $\text{CO}_2$  浓度见表 1。

表 1 不同种类下微藻生物质产量和最大  $\text{CO}_2$  固定率

Table 1 Microalgal biomass yield and maximum  $\text{CO}_2$  fixation rates under different species

微藻种类	温度/ ℃	$\text{CO}_2$ 体 积分 数/%	生物质 产量/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	最大 $\text{CO}_2$ 固定率/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )	参考 文献
小球藻 SJTU-2	25.00	10.0	1.550	0.260	[34]
小球藻 PY-ZU1	27.00	15.0	5.420	0.950	[35]
小球藻 BTA 9031	28.26	4.0	1.420	0.235	[36]
小球藻 LEB 111	30.00	15.0	2.530	0.142	[37]
小球藻 LEB 111	30.00	10.0	1.240	0.208	[38]
小球藻	27.00	10.0	2.120	0.610	[39]
小球藻	30.00	6.0	10.020	2.220	[40]
斜角栅藻 SA1	25.00	13.8	4.975	0.253	[41]
斜栅藻 SJTU-3	25.00	10.0	1.840	1.550	[34]
斜栅藻 CNW-N	28.00	20.0	3.510	0.550	[42]
螺旋藻 LAMB220	—	10.0	3.200	0.462	[43]
螺旋藻 LEB 18	30.00	—	2.100	0.319	[44]
螺旋藻 3-B2	26.00	12.0	1.010	0.120	[45]
螺旋藻	30.00	12.0	1.600	—	[46]
微绿球藻 NCTU-3	26.00	2.0	0.497	—	[47]
鱼腥藻 CH1	—	10.0	—	1.010	[48]
栅藻	20.00	20.0	1.950	0.210~1.200	[15]
葡萄藻	20.00	10.0	0.410	0.100~0.190	[15]
葡萄藻 SAG-30.81	30.00	5.0	3.110	0.497	[49]
杜氏藻 ABRIINW-CH2	23.00	30.0	1.780	0.272	[50]
杜氏藻 ABRIINW-SH33	23.00	30.0	1.830	0.280	[50]
单针藻	21.00	7.5	1.698	0.529	[51]
脂球藻 WBG1	25.00	15.0	1.120	0.260	[52]

$\text{CO}_2$  固定和生物质生产性能因微藻种类而异, 但由于微藻具有不同的生物学性能并在不同条件下培养, 因此数据可能不具有严格的可比性。然而, 与其他物种相比, 观察到小球藻性能更好, 生长速度快、更耐受恶劣环境。其生物质产量和  $\text{CO}_2$  固定率分别高达  $10.02 \text{ g/L}$  和  $2.22 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ <sup>[40]</sup>。

微藻- $\text{CO}_2$  生物固定和生物质生产是一个复杂的物理化学过程。实现高  $\text{CO}_2$  固定率和生物质产量的最佳范围或最佳值因微藻物种不同而存在差异。有必要开发高性能物种, 在更复杂和恶劣的环境中

实现微藻 CO<sub>2</sub> 固定和生物质生产最大化。因此,选择、分离和培养生长速度快、光合速率高、环境耐受/适应性强、脂质含量高的微藻物种将是未来研究方向<sup>[27]</sup>。

## 2 微藻光合效率提高策略

### 2.1 随机诱变

#### 2.1.1 化学诱变

化学诱变是突变育种领域一种高效易行的技术,通过化学诱变剂处理生物细胞,以诱发基因突变产生遗传性状的变化。根据育种目标对产生的突变体进行筛选培育,最终得到具有理想特征的新品种,如高 CO<sub>2</sub> 固定率、高脂质含量、强耐酸性等,具有很高专一性。目前最广泛使用的化学诱变剂包括甲基磺酸乙酯(EMS)和亚硝基胍(NTG)<sup>[53-54]</sup>。

KAO 等<sup>[55]</sup>使用 EMS 诱导小球藻得到 MM-2 突变体。MM-2 在生物量质量浓度为 1.2 g/L 时,对脱硫沼气(~20% CO<sub>2</sub>、~70% CH<sub>4</sub> 和 H<sub>2</sub>S 体积分数 < 100×10<sup>-6</sup>)的 CO<sub>2</sub> 捕获效率在阴天约为 70%,晴天为 80%。研究发现,采用 EMS 诱变还可增加微藻的生物量产量和脂质积累。TANADUL 等<sup>[56]</sup>使用 EMS 诱导小球藻,通过除草剂筛选出突变体,相比于野生型,其最高生物量产量和脂类产量分别提高了 110% 和 53%。

NTG 是另一种常见的化学诱变剂,LEE 等<sup>[57]</sup>使用 N-甲-N'-硝基-N-亚硝基胍进行诱变,成功获得了一种具有耐高温的小球藻 GD 突变体。该突变体在室外高温条件下具有较高的光合作用效率和生物量产量,是大规模生产乳酸的有效发酵原料。KUO 等<sup>[58]</sup>通过 NTG 诱变法筛选了一种耐碱的小球藻突变体 AT1,结果表明,通过 10% CO<sub>2</sub> 的间歇性通气和碱性培养基(pH = 10)作为耐碱微藻培养的 CO<sub>2</sub> 捕获策略,可以明显提高小球藻突变体 AT1 的 CO<sub>2</sub> 利用效率。

化学诱变可产生高频率的点突变,染色体畸变率相对较低,有利于选择特定的育种方向<sup>[59]</sup>。但化学试剂对微藻的毒性较大,也存在突变频率低等问题,且使用过程中有一定毒害性。

#### 2.1.2 紫外线诱变

紫外线诱变控制灵活、操作方便,被广泛应用于包括藻类在内的各种生物体的诱变<sup>[60]</sup>。紫外线辐射能诱导 DNA 中嘧啶二聚体的形成,包括转变、颠换、移码突变或缺失,从而引起生物体突变<sup>[61]</sup>。

通过紫外诱变得到的诱变藻株是 CO<sub>2</sub> 固定和生

解能源短缺。LI 等<sup>[62]</sup>利用紫外线诱变技术能耐受高浓度 CO<sub>2</sub> 的高效微藻 *S. obliquus* WUST4,并利用其开发的中试规模系统从实际烟气中捕获 CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> 去除率可达 67%。LIU 等<sup>[60]</sup>利用紫外诱变产生小球藻突变体,相比于野生型,其生物量和脂质均有不同程度增加,生长速率更高。

QI 等<sup>[63]</sup>结合 96 孔微孔板-紫外诱变技术,筛选出一种斜栅藻突变体 SDEC-1M。连续培养后,该突变体表现出高 CO<sub>2</sub> 耐受性和高生物量产量。此外,高光转换效率和高碳水化合物含量说明其能将光有效转化为生物乙醇原料。这个创新方法使每个细胞在 96 孔微孔板的孔中分离诱变,保护了分离藻株纯度,避免了巨大的工作量和感染风险。

紫外线辐射引起的突变为非定向,但可灵活控制使微藻发生突变<sup>[64]</sup>,不需获取微藻的遗传信息。与基因工程相比更易操作;与化学方法相比,紫外诱变可避免二次污染。由于紫外线突变对生物体有显著生物学效应,如具有更好的固碳性、脂质、虾青素等,可获得更高收益<sup>[60]</sup>。

#### 2.1.3 核诱变

核诱变能通过电离作用改变 DNA 分子结构,直接导致碱基、脱氧核糖、糖-磷酸连接处的化学键断裂;且在电离的同时与细胞中分子,特别是与水分子相互作用,产生大量自由基破坏 DNA 结构引起基因突变或重组,从而改变物种的遗传性状<sup>[65]</sup>。AGARWAL 等<sup>[66]</sup>发现 γ 射线能在一定程度上刺激 Rubisco 酶的活性,促进了卡尔文循环中 C3 化合物的合成,从而提高 CO<sub>2</sub> 捕获效率。

<sup>60</sup>Co 和 <sup>137</sup>Cs 是最常用于核诱变的辐射源。ZHU 等<sup>[67]</sup>用 <sup>60</sup>Co 的 γ 辐照获得了耐酚且生长迅速的 *A. platensis* 突变体,突变体的苯酚降解效率和 CO<sub>2</sub> 固定率相比野生型分别提高了 34.7% 和 22.4%。CHENG 等<sup>[68]</sup>采用 <sup>60</sup>Co 的 γ 射线照射螺旋藻以提高 CO<sub>2</sub> 固定率和生物量产量,其得到的突变体生物量相比于野生型增加了 310%,认为 CO<sub>2</sub> 固定率的提高是由于螺旋藻突变体微观结构的变化<sup>[68]</sup>。突变体的细胞壁孔径增加,这一特性降低了孔阻力,直接促进 CO<sub>2</sub> 向细胞中扩散<sup>[68]</sup>。此外,CHENG 等<sup>[69]</sup>通过 γ 射线对菱形藻 *Nitzschia* sp. 进行了 2 轮诱变,发现突变体快速生长,培养周期由 15 d 缩短至 12 d。LU 等<sup>[70]</sup>应用 <sup>137</sup>Cs 射线照射小球藻,得到的突变体 MS700 吸收溶解无机碳能力和析氧速率比野生型分别高出 27.7% 和 31.4%。突变体的生物量产量和固碳效率大幅提高,其可能原因是基于叶绿素的闪氧产率升高,故质体醌库中有更多的可用电子受体,光能到化

学能的转换效率更高<sup>[70]</sup>。

## 2.2 适应性实验室进化

适应性实验室进化(ALE)即驯化,是一种改善微藻菌株特性的有力工具,用于在环境压力下(如高CO<sub>2</sub>浓度、高盐度、高温等)培养微藻,以获得具有理想表型的微生物进化<sup>[71]</sup>。借助压力驯化,培养物中大量微生物可通过多周期培养直接在多种基因中平行积累非直观的有益突变<sup>[72]</sup>。工业烟气的主要成分是CO<sub>2</sub>,同时还包含NO<sub>x</sub>、SO<sub>x</sub>、PM<sub>2.5</sub>、重金属Hg等多种残留物。YE等<sup>[73]</sup>采用生命周期法综合评价了微藻固定燃煤电厂和煤化工烟气CO<sub>2</sub>技术的能量转换特性和环境影响。结果表明,微藻生长速率变化对能源消耗和净CO<sub>2</sub>排放影响最大。因此更多学者采用驯化微藻提高其在烟气条件下的生长速率和耐受性<sup>[59]</sup>。

ALE是提高小球藻对高CO<sub>2</sub>耐受性的有效途径<sup>[74]</sup>。为获得高CO<sub>2</sub>耐受性且具有高CO<sub>2</sub>固定能力的微藻菌株,LI等<sup>[74]</sup>在10%和20%的CO<sub>2</sub>条件下进行了31个周期的适应性实验室进化,分别获得了2个进化的小球藻AE10和AE20,均能在30%的CO<sub>2</sub>下快速生长,且最大生物量浓度和叶绿素含量明显高于原始藻株。WANG等<sup>[10]</sup>对海洋微拟球藻CCMP1779进行了CO<sub>2</sub>逐步梯度驯化,在15%的CO<sub>2</sub>下,驯化后的微藻生物量提高了22.7倍,同时研究了CO<sub>2</sub>梯度驯化改善微藻特性的机制。研究发现微藻的功能选择性多靶点基因突变由CO<sub>2</sub>梯度驯化过程引起,从而使光合作用、碳固定和细胞合成能力提高<sup>[10]</sup>。

除了高浓度CO<sub>2</sub>,烟气中其他杂质也会抑制微藻生长。ASLAM等<sup>[75]</sup>研究证明了混合微藻群落可逐渐在燃煤产生的100%未经过滤烟气中(含11%CO<sub>2</sub>)生长。然而,由于适应高浓度SO<sub>x</sub>和NO<sub>x</sub>需较长时间,只有添加更高浓度的磷酸盐缓冲剂确保pH才能维持生长。为进一步研究杂质对适应性实验室进化的影响,CHENG等<sup>[76]</sup>通过适应性实验室进化(46个周期)获得了一株新的小球藻C<sub>v</sub>。证实了该小球藻能在模拟烟气(10%CO<sub>2</sub>、200×10<sup>-6</sup>NO<sub>x</sub>和100×10<sup>-6</sup>SO<sub>x</sub>)条件下适应生长,最大CO<sub>2</sub>固定率为1.2g/(L·d)<sup>[76]</sup>。

CO<sub>2</sub>梯度驯化是工业上培养各种高CO<sub>2</sub>耐受微藻的理想方法。经过驯化的微藻既能快速生长,又能提高固定CO<sub>2</sub>的能力。但烟气中存在的SO<sub>x</sub>和NO<sub>x</sub>抑制微藻的CO<sub>2</sub>固定过程,故能在微藻生长过程中保持稳定pH,这对于利用微藻处理高浓度SO<sub>x</sub>

和NO<sub>x</sub>的烟气至关重要<sup>[77]</sup>。

## 2.3 基因工程

近10a来,微藻基因组学的重大进展为基因工程提供了坚实基础<sup>[78]</sup>。一些微藻的细胞器基因组已被测序,并且证明了微藻基因型和表型之间的内在关系<sup>[79-80]</sup>。由于基因编辑技术不断发展,基因组可根据需要进行精确编辑。微藻基因工程有利于改善微藻的光合作用和生物量积累,从而提高CO<sub>2</sub>捕获率<sup>[78]</sup>。最大化光合作用效率是目前开发和利用生物能源的最大挑战之一。

光合作用涉及光吸收、能量转换和碳转移等,是一个复杂的物理化学反应过程<sup>[72,81]</sup>。改善光合作用对于提高生物质生产力和CO<sub>2</sub>封存效率至关重要。改善微藻光合作用效率的3个主要潜在目标点为:①提高参与CO<sub>2</sub>固定的酶效率<sup>[82]</sup>;②改变能量收集复合物<sup>[83]</sup>;③增加CO<sub>2</sub>同化以减少CO<sub>2</sub>和能量损失<sup>[79,84-85]</sup>。

### 2.3.1 CO<sub>2</sub>固定中关键酶改进

参与CO<sub>2</sub>固定途径的关键酶表达调控是提高CO<sub>2</sub>固定效率的关键手段之一。CO<sub>2</sub>固定涉及2个关键途径:卡尔文循环(将无机碳固定在有机碳上)和CCM(促进无机碳向卡尔文循环的输送)<sup>[86]</sup>。

Rubisco是全球碳循环的主要参与者,涉及卡尔文循环中碳固定的第1步,引导CO<sub>2</sub>进入卡尔文循环<sup>[87]</sup>。但Rubisco酶的催化反应是CO<sub>2</sub>固定的限速步骤,因为在正常CO<sub>2</sub>水平下,Rubisco仅发挥了其25%的催化能力。为增加Rubisco活性,有研究集中在Rubisco基因改造,以提高其速度和选择性<sup>[88]</sup>。增强Rubisco的催化特性可通过引入点突变进行<sup>[89]</sup>。FUJIHASHI等<sup>[90]</sup>根据中温菌(来自植物I型)和超嗜热古菌(III型)Rubiscos的三维结构和氨基酸残基的差异,设计了几个新的点突变增强其在室温条件下的活性。点突变SP8-T289D型在体内活性的改善尤其明显,其生长率几乎是环境温度下含野生型酶菌株的2倍。还可通过修饰Rubisco激活酶基因的表达来调节Rubisco活性。WEI等<sup>[82]</sup>通过核编码的、与cbbX同源的Rubisco激活酶的过度表达,提高了工业油料微藻*Nannochloropsis oceanica*的生物量产量和光合作用效率。在空气水平的CO<sub>2</sub>下,突变体的生长速率、生物量产量和脂质产量分别提高了约32%、46%和41%,光合作用提高约28%。其中Rubisco大亚基蛋白丰度增加约45%,表明nNoRca样的过度表达通过上调Rubisco水平和活性来增强微藻的光合作用。



此外,CO<sub>2</sub>光合固定效率不仅取决于 Rubisco 的羧化能力,还取决于 RuBP 的再生能力。醛缩酶过表达促进卡尔文循环中的 RuBP 再生和光系统中的能量转移。YANG 等<sup>[91-92]</sup>产生了表达蓝藻醛缩酶的转基因 *C. vulgaris* 细胞。由于醛缩酶的过表达,转基因微藻的 CO<sub>2</sub>固定率和能量转移效率更高。此外,许多研究报道在微藻中过表达 SBPase 基因和 Rubisco 激活酶基因会加速卡尔文循环,从而增强了碳固定和光合作用的能力。

参与碳固定的第2组重要酶是参与 CCM 的碳酸酐酶(CA),其在催化 CO<sub>2</sub>和碳酸氢盐(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)的相互转化中起重要作用。因此,通过基因工程在 CCM 中过表达 CA 可能是有效捕获过剩 CO<sub>2</sub>的方法<sup>[93]</sup>。研究表明,低浓度 CO<sub>2</sub>下,CA 可改善光合作用<sup>[94]</sup>。LIN 等<sup>[93]</sup>报道了一个具有最高催化活性的外源 MICA 基因(678 bp)分别在小球藻 *Chlorella sorokiniana* 和 *Chlorella vulgaris* 中成功过度表达,证明了这2种转基因微藻的生物物质产量、蛋白质含量和脂质含量均有所提高,并加速了 CO<sub>2</sub>的捕获和固定。但在高浓度 CO<sub>2</sub>水平下,CA 出现了抑制光合作用的情况。WEI 等<sup>[95]</sup>研究发现在工业油性微藻 *Nannochloropsis oceanica* 中,敲除被高 CO<sub>2</sub>(5% CO<sub>2</sub>)抑制的碳酸酐酶(CA2)的转录本,会加强 CO<sub>2</sub>的同化效率。故在高浓度 CO<sub>2</sub>下,下调 CCM 相关基因可能提高微藻固定 CO<sub>2</sub>的能力。

### 2.3.2 能量收集复合体的优化

光照是直接影响微藻的光合活性及其生长动力学的主要因素<sup>[96]</sup>。微藻的光照辐射增强时,其光转换效率和 CO<sub>2</sub>固定能力提高<sup>[97]</sup>。然而,约80%的吸收光子可能浪费,从而将光合生产力和太阳能到产品的转换效率降至极低水平<sup>[98]</sup>。

通过减小集光复合体(LHC)天线尺寸在一定程度上解决这些问题,减轻对太阳光的过度吸收和激发能量的浪费,从而提高光合作用效率,特别是在密集培养中<sup>[79]</sup>。一些功能性转基因插入和表达达到微藻基因组中,如 *lciA* 和 *nab1\**,可减小 LHC 天线尺寸,并改善 CO<sub>2</sub>的固定和光合效率<sup>[99]</sup>。BECKMANN 等<sup>[100]</sup>使用 NAB1 的永久活性变体(一种细胞溶质 RNA 结合蛋白)进行翻译抑制试验,降低了 LHC 基因的转录表达,导致 PSI 天线尺寸减小 10%~17%。MUSSGUG 等<sup>[101]</sup>使用 RNAi 技术下调了莱茵衣藻中整个 LHC 基因家族,以减少荧光和热量造成的能量损失,从而提高了强光条件下的光合效率。结果表明,在荧光水平降低的情况下存在突变体 *Stm3LR3*,光合量子产率更高,对光抑制的敏

感性降低,提高了强光条件下的光合效率。近年来,通过敲除编码 LHC 蛋白质的基因产生了几种突变体,如基因 *tla1*、*tla2* 和 *tla3*,这些突变体减小了叶绿素天线尺寸。如敲除 *tla3*(CpSRP43)提高了微藻的太阳能转化效率,由于将天线尺寸减小至野生型的 40%,从而提高了光合效率<sup>[102]</sup>。

此外,调整降低非光化学淬灭系数(NPQ)机制也可提高作物生产力<sup>[103]</sup>。PEROZENI 等<sup>[104]</sup>发现 LHCSR3 蛋白在莱茵衣藻 PSI 和 PSII 的 NPQ 机制中发挥重要作用。LHCSR3 在 HSP70/RBCS2 启动子的控制下表达,为细胞提供最小的 NPQ 容量。这种微调的 NPQ 活性将莱茵衣藻的光合效率从 3.4%提高至 4.4%~4.7%<sup>[105]</sup>。最近,SPA1 和 CUL4 基因已确定通过控制莱茵衣藻中 PSBS 和 LHCSR 基因的表达响应强光、蓝光和紫外光,从而使 NPQ 快速恢复<sup>[106]</sup>。通过正确表达关键的调节 NPQ 基因提高生物物质生产力具有发展潜力。

改善微藻中光合作用效率的另一种策略是引入具有更宽吸收光谱的异源光系统。光合有效辐射(PAR)是指波长为 400~700 nm 的太阳光部分,可用于启动光合作用。植物和微藻光系统仅能吸收 PAR 范围的可见光,而约 50%的可用太阳辐射落在该范围外<sup>[107]</sup>。引入非天然色素的生物合成途径可能会增加吸收范围和光合效率。KOH 等<sup>[108]</sup>从衣藻中克隆了叶绿素 a 加氧酶(CrCAO)基因到微拟球藻 *Nannochloropsis* (只有叶绿素 a,缺乏叶绿素 b)中,以产生叶绿素 b。12 d 后,在中光照条件下,该藻细胞数增加 26%,细胞干重提高 31%,总脂质含量增加 8%。此外,研究报道将叶绿素 f 合酶(ChlF)编码基因引入蓝藻,可使该生物体合成叶绿素 f(Chl f),该色素在太阳光谱的远红色区域吸收,扩展了 PAR 的光谱范围<sup>[83]</sup>。ChlF 可替代 D1 亚基,形成产生 Chl f 的改良型 PSII 复合体<sup>[109]</sup>。通过在蓝藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803(其本身不含 Chl f 色素)中设计嵌合的 D1/ChlF 蛋白,该工程菌株可合成 Chl f 色素<sup>[109]</sup>。此外,基因工程还可用于指导细胞叶绿素或类胡萝卜素向其他色素的酶促转化,以扩展 PAR 谱<sup>[110-111]</sup>。

### 2.3.3 CO<sub>2</sub>同化作用的增强

研究表明,CO<sub>2</sub>浓度对微藻碳固定和生物物质生产性能的影响复杂。大多数微藻仅在低浓度 CO<sub>2</sub>水平下生长,CO<sub>2</sub>体积分数超过 5%认为对微藻生长有毒,因此亟需在高浓度 CO<sub>2</sub>(20%)下快速生长的微藻<sup>[27,112-113]</sup>。改善微藻 CO<sub>2</sub>固定效率需提供足够的 ATP 并重新定向碳通量以生成代谢物。研究假设

增加 NADPH 消耗途径可能会改善光反应和暗反应的耦合,从而提高光合效率和生物质产量<sup>[79]</sup>。ZHOU 等<sup>[114]</sup>为验证这一假设,在蓝藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 中构建了 NADPH 消耗途径。结果表明,NADPH 消耗突变体的生物质产量和 CO<sub>2</sub>固定率分别增加了 84% 和 38%。HU 等<sup>[115]</sup>开发了一种组合策略提高微生物固定 CO<sub>2</sub>的效率,将产生 ATP 的羧化反应与消耗 ATP 的碳固定途径中的 Rubisco 分流器结合。该策略提供了足够的 ATP 以提高 CO<sub>2</sub>固定效率,同时将 CO<sub>2</sub>固定途径重新连接到生物合成的中心代谢途径。自养长聚球藻的 CO<sub>2</sub>固定率和苹果酸产量分别提高 110% 和 260 μmol/L。此外,一种名为“malyI-CoA-glycerate (MCG)”的人工合成途径被基因工程改造到聚球藻中延长 PCC7942,使 CO<sub>2</sub>同化加倍<sup>[79]</sup>。此外,通过使用更有效的羧化酶替代 Rubisco 或用其他碳固定途径替代卡尔文循环来调节光呼吸途径可提高微藻的光合效率<sup>[116-117]</sup>。上述结果表明碳固定途径可被设计,且新途径可显著增强碳固定。未来需进一步研究提高光合效率的方法。

#### 2.4 纳米材料的干预

研究表明,纳米材料(NMs)在改善细胞行为方面潜力巨大<sup>[118]</sup>。NMs 被定义为任一外部维度、内部或表面结构处于 1~100 nm 纳米尺度的材料。工业上常用的 NMs 有碳基纳米材料(CNMs)、金属氧化物基纳米材料(MONMs)和贵金属基纳米材料(NMNMs)。这些 NMs 通常与微藻存在不同程度的相互作用<sup>[118]</sup>。低浓度 NMs 在提高微藻生物量、脂质含量、改善光合作用等方面应用已有报道<sup>[119]</sup>。由于低浓度 NMs 可通过诱导分泌细胞外聚合物(EPS)和增强细胞壁提高对 NMs 抵抗力<sup>[120]</sup>。故在微藻培养过程中加入 NMs 有望提高微藻产量和经济效益。

CO<sub>2</sub>在水中停留时间短、溶解度低,阻碍了微藻对 CO<sub>2</sub>的吸收利用效率。为改善 CO<sub>2</sub>在藻类溶液中扩散并转化为溶解的 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>,CHENG 等<sup>[121]</sup>采用煅烧金属有机骨架 MIL-100(Fe)作为 CO<sub>2</sub>吸附剂促进生力源螺旋藻(*Arthrospira platensis*)生长。与未添加 MIL-100(Fe)的溶液相比,培养基中溶解无机碳的转化率和生物质生产率分别提高了 52.3% 和 81.9%。且 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度提高了 20.0%,Rubisco 酶可直接利用 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>分子来改善微藻的光合作用。此外,还采用 ZIF-8 作为 CO<sub>2</sub>吸附剂来培养生力源螺旋藻,微藻 CO<sub>2</sub>转化为 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>的能力提高了 72.9%<sup>[44,122]</sup>。

使用纳米纤维作为物理吸附剂的 CO<sub>2</sub>生物固定研究前景广阔,培养结束时易将微藻生物质与纳米结构分离<sup>[123]</sup>。VAZ 等<sup>[124]</sup>开发了含有氧化铁纳米颗粒(NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)的聚合物纳米纤维,用于培养小球藻 LEB111。NPsFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>增加了纳米纤维的比表面积和孔隙率,这些特性对于纳米结构作为吸附材料的应用至关重要。含有纳米纤维的微藻中表现出更高的 CO<sub>2</sub>固定率(216.2 mg/(L·d)),以及更高的生物量和碳水化合物产量,证实了电纺纳米作为 CO<sub>2</sub>物理吸附剂的潜力。VAZ 等<sup>[124]</sup>研究表明,吸附剂纳米纤维增加了小球藻 LEB111 在室外试验中的 CO<sub>2</sub>生物固定及脂质产量<sup>[125]</sup>。此外 COMITRE 等<sup>[37]</sup>探究了通过更新小球藻 LEB111 培养物中聚合物纳米纤维来提高微藻固定 CO<sub>2</sub>能力,发现培养的第 7 天和第 15 天,纳米纤维的双重更新提高了小球藻的生物质浓度和 CO<sub>2</sub>的生物固定率。

此外,碳基 NMs 可通过增加光吸收光谱促进微藻生长和光合作用。碳点(CDs)毒性低、可生物降解,ZHANG 等<sup>[126]</sup>采用小球藻作为模型微藻研究 CDs 的影响,使生物量和增长率分别提高 17% 和 21%。这是由于 CDs 可被小球藻降解并产生大量 CO<sub>2</sub>,这些 CO<sub>2</sub>被叶绿体固定并增强光合作用。CDs 可将 Rubisco 酶体内活性提高 34%。此外,CDs 可吸收紫外光并作为抗氧化剂保护小球藻抵抗紫外线辐射的伤害。NGUYEN 等<sup>[127]</sup>研究发现含氮化镁(MgAC)培养基中添加壳聚糖基碳点 N(CD)s,有助于绿藻 *Tetraselmis* sp.抵消紫外线辐射的不利影响,并将光辐射转化为有利于光合作用的波长,提高了绿藻的生长速率和生物量生产力。氧化石墨烯量子点(GOQDs)被认为可促进 PSII 能量转移从而增强微藻的光合作用。YANG 等<sup>[128]</sup>将在紫外(380 nm)激发后具有蓝光(465 nm)辐射的氧化石墨烯量子点(GOQDs)引入微藻培养基中,系统中发现 CO<sub>2</sub>固定率提高了 20%,脂质积累增加了 34%。证明使用 GOQDs 提高微藻的光合效率潜力巨大,尤其在太阳紫外线较高的环境中,但仍有必要探索更有效的 NMs 来增强吸收光谱。

微藻和 NMs 相互作用有助于增加叶绿素含量,从而增强光合作用活性来促进微藻生长<sup>[118]</sup>。KSI AŻYK 等<sup>[129]</sup>测定了不同浓度的 AgNMs 和 PtNMs 对微藻 *P. subcapitata* 的影响,研究发现低浓度 NMs (PtNMs 质量浓度 1~15 mg/L, AgNMs 质量浓度 1 mg/L)会诱导光合色素中叶绿素 a 和叶绿素 b 的形成,有助于增强微藻的光合作用效率和生长。主



要是由于微藻的兴奋反应,添加纳米材料会引起其防御机制从而诱导细胞生长。LI等<sup>[130]</sup>将小球藻与高效捕光金纳米粒子(AuNPs)结合,首次证明其可有效增加天然生物产品(即类胡萝卜素)的光合作用,比天然微藻高出42.7%。AuNPs可显著提高光系统II中相对电子传输速率和微藻中活性氧(ROS)水平,从而提高类胡萝卜素的整体光合作用。

在微藻培养中添加NMs具有突出优势,如增强CO<sub>2</sub>在溶液中扩散/溶解、光吸收光谱和色素含量,但由于添加NMs会对微藻细胞造成氧化应激,增加ROS水平,研究表明高浓度NMs会抑制光合作用,故在低浓度时可改善微藻生长和光合效率<sup>[118]</sup>。

### 3 发展前景

目前,随机诱变、适应性实验室进化、基因工程和纳米材料干预对增强微藻固碳潜力巨大。但由于微藻的固碳过程相对复杂,仍存在局限性,需进一步深入探索。

1)工业烟气的主要成分为CO<sub>2</sub>,同时包含NO<sub>x</sub>、SO<sub>x</sub>、PM<sub>2.5</sub>、重金属Hg等多种残留物。通过逐渐增加CO<sub>2</sub>浓度筛选耐受更高浓度CO<sub>2</sub>的微藻菌株是实现有效、经济可行的CO<sub>2</sub>生物固定的关键。而微藻种类繁多,藻类研究仅关注少数种类,需进一步关注其他潜在微藻。此外,微藻-CO<sub>2</sub>固定过程中应进行更完整的经济分析和敏感性分析,以获得各产品生物质加工、生命周期、实时场景中的工业应用、市场增值终端产品等。

2)随机诱变被认为是一种有前景的突变育种技术,广泛应用于菌株改良和代谢过程的分子基础研究。化学诱变易操作,但化学试剂有害。与化学方法相比,紫外诱变控制更灵活,可减少二次污染,但毒性较大、突变率低、辐射风险大等,需进一步解决。

3)尽管在微藻培养中添加NMs具有诸多优势,如增强CO<sub>2</sub>扩散/溶解、增强微藻光吸收光谱及可回收和重复使用NMs等,但仅在低浓度NMs下,微藻的生长和光合性能得以改善,当微藻暴露在高浓度NMs中时可能会限制其光合作用。

4)目前在微藻中掺入NMs的相关研究仅在实验室规模下进行,NMs昂贵的价格和毒性限制了其在工业中的应用。在微藻培养后回收和重复利用NMs是一种降低成本的有效方法。如可从培养基中简单离心分离产生的微藻生物质实现回收。

5)利用基因编辑技术对微藻进行基因修饰比较繁琐,需要复杂的设备和试验条件,价格昂贵,实

验周期长。但与其他修饰相比,具有以下优势:可定向操作,根据需求设计基因,打破物种之间的界限。未来有必要确定更多微藻基因组序列,阐明基因型和表型之间的内在关系。通过人工智能算法进行遗传设计,加速微藻基因工程的发展和应。

### 4 结 语

可再生能源和碳捕集与利用技术是满足世界能源需求和减少温室气体排放的2个重要解决方案。微藻生物质作为可再生能源,在众多碳利用技术中尤为重要:①以高光合速率更有效固定温室气体CO<sub>2</sub>,具有减少烟气中CO<sub>2</sub>排放的潜力;②实现碳利用,可转化为高附加值产品(如生物燃料、保健品、化妆品、动物饲料等),实现经济效益。微藻适应恶劣环境、耐受高浓度CO<sub>2</sub>,并具备生长率和光合效率,是研发成功微藻固碳系统的关键。系统讨论了微藻的光合作用和相关碳固定机制。小球藻、螺旋藻、栅藻、葡萄藻、杜氏藻等微藻是大规模户外种植以减少发电厂烟气中CO<sub>2</sub>排放的竞争候选者。可使用随机诱变、适应性实验室进化、基因工程和纳米材料的干预等策略来提高微藻的固碳效率。其中,基因工程作为一种新颖而强大的基因技术应用潜力巨大,不仅可截断LHC天线尺寸来提高光合效率,还可提高Rubisco的速度和选择性。此外,纳米材料可增强CO<sub>2</sub>在溶液中扩散/溶解,显著提高PSII中的相对电子传输速率以及微藻中ROS水平,从而改善对类胡萝卜素的一般光合作用。

### 参考文献(References):

- [1] LI S, LI X, HO S-H. How to enhance carbon capture by evolution of microalgal photosynthesis? [J]. Separation and Purification Technology, 2022, 291:120951.
- [2] IEA. Globalenergy review: CO<sub>2</sub> emissions in 2021 [R]. Paris: International Energy Agency, 2022.
- [3] DANESHVAR E, WICKER R J, SHOW P L, et al. Biologically-mediated carbon capture and utilization by microalgae towards sustainable CO<sub>2</sub> biofixation and biomass valorization: A review [J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 427:130884.
- [4] 黄晶, 马乔, 史明威, 等. 碳中和视角下CCUS技术发展进程及对策建议 [J]. 环境影响评价, 2022, 44(1):42-47. HUANG Jing, MA Qiao, SHI Mingwei, et al. Process and suggestions of CCUS technology development from the perspective of carbon neutrality [J]. Environmental Impact Assessment, 2022, 44(1):42-47.
- [5] LIAO Q, CHANG H X, FU Q, et al. Physiological-phased kinetic characteristics of microalgae *Chlorella vulgaris* growth and lipid synthesis considering synergistic effects of light, carbon and nutrients [J]. Bioresource Technology, 2018, 250:583-590.

- [6] CHOI H I, HWANG S W, SIM S J. Comprehensive approach to improving life-cycle CO<sub>2</sub> reduction efficiency of microalgal biorefineries: A review [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 291:121879.
- [7] CHEN Y, XU C, VAIDYANATHAN S. Microalgae: A robust "green bio-bridge" between energy and environment [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2018, 38(3):351-368.
- [8] BOHUTSKYI P, BOUWER E. Biogas Production from algae and cyanobacteria through anaerobic digestion: A review, analysis, and research needs [M]//LEE J W. *Advanced biofuels and bioproducts*. New York: Springer, 2013:873-975.
- [9] ABDELKAREEM M A, LOOTAH M A, SAYED E T, et al. Fuel cells for carbon capture applications [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 769:144243.
- [10] WANG Z, CHENG J, SONG W, et al. CO<sub>2</sub> gradient domestication produces gene mutation centered on cellular light response for efficient growth of microalgae in 15% CO<sub>2</sub> from flue gas [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 429:131968.
- [11] IQBAL K, SAXENA A, PANDE P, et al. Microalgae-bacterial granular consortium: Striding towards sustainable production of biohydrogen coupled with wastewater treatment [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 354:127203.
- [12] LI G, HU R, WANG N, et al. Cultivation of microalgae in adjusted wastewater to enhance biofuel production and reduce environmental impact: Pyrolysis performances and life cycle assessment [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 355:131768.
- [13] YASSIN M M, ANDERSON J A, DIMITRAKIS G A, et al. Effects of the heating source on the regeneration performance of different adsorbents under post-combustion carbon capture cyclic operations: A comparative analysis [J]. *Separation and Purification Technology*, 2021, 276:119326.
- [14] KINNUNEN V, CRAGGS R, RINTALA J. Influence of temperature and pretreatments on the anaerobic digestion of wastewater grown microalgae in a laboratory-scale accumulating-volume reactor [J]. *Water Research*, 2014, 57:247-257.
- [15] RODAS-ZULUAGA L I, CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ L, CASTILLO-VACAS E I, et al. Bio-capture and influence of CO<sub>2</sub> on the growth rate and biomass composition of the microalgae *Botryococcus braunii* and *Scenedesmus* sp [J]. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 2021, 43:101371.
- [16] LI S, LI F, ZHU X, et al. Biohydrogen production from microalgae for environmental sustainability [J]. *Chemosphere*, 2022, 291:132717.
- [17] SINGH S P, SINGH P. Effect of CO<sub>2</sub> concentration on algal growth: A review [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2014, 38:172-179.
- [18] GIORDANO M, BEARDALL J, RAVEN J A. CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in algae: Mechanisms, environmental modulation, and evolution [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2005, 56(1):99-131.
- [19] IVERSON T M. Evolution and unique bioenergetic mechanisms in oxygenic photosynthesis [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2006, 10(2):91-100.
- [20] BALLOTTARI M, GIRARDON J, DALL'OSTO L, et al. Evolution and functional properties of Photosystem II: Light harvesting complexes in eukaryotes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2012, 1817(1):143-157.
- [21] NEILSON J A D, DURNFORD D G. Structural and functional diversification of the light-harvesting complexes in photosynthetic eukaryotes [J]. *Photosynthesis Research*, 2010, 106(1):57-71.
- [22] PRASAD R, GUPTA S K, SHABNAM N, et al. Role of microalgae in global CO<sub>2</sub> sequestration: Physiological mechanism, recent development, challenges and future prospective [J]. *Sustainability*, 2021, 13(23):13061.
- [23] HO S H, CHEN C Y, LEE D J, et al. Perspectives on microalgal CO<sub>2</sub>-emission mitigation systems: A review [J]. *Biotechnology Advances*, 2011, 29(2):189-198.
- [24] YANG C, HUA Q, SHIMIZU K. Energetics and carbon metabolism during growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic light-autotrophic/dark-heterotrophic conditions [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2000, 6(2):87-102.
- [25] MIN M, HU B, ZHOU W, et al. Mutual influence of light and CO<sub>2</sub> on carbon sequestration via cultivating mixotrophic alga *Auxenochlorella protothecoides* UMN280 in an organic carbon-rich wastewater [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2012, 24(5):1099-1105.
- [26] DURALL C, LINDBLAD P. Mechanisms of carbon fixation and engineering for increased carbon fixation in cyanobacteria [J]. *Algal Research*, 2015, 11:263-270.
- [27] ZHAO B, SU Y. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2014, 31:121-132.
- [28] PRICE G D. Inorganic carbon transporters of the cyanobacterial CO<sub>2</sub> concentrating mechanism [J]. *Photosynthesis Research*, 2011, 109(1):47-57.
- [29] IWAKI T, HARANO H, INOUE N, et al. Expression of foreign type I ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (EC 4.1.1.39) stimulates photosynthesis in cyanobacterium *Synechococcus* PCC7942 cells [J]. *Photosynthesis Research*, 2006, 88(3):287-297.
- [30] GHOSHAL D, GOYAL A. Carbon concentration mechanism(s) in unicellular green algae and cyanobacteria [J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2001, 10(2):83-90.
- [31] 秦燕, 范波, 苗贵东. 衣藻二氧化碳浓缩机制及其调控的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2021, 49(4):20-25, 28. QIN Yan, FAN Bo, MIAO Guidong. Research progress on the CO<sub>2</sub> concentrating mechanism and its regulation in *Chlamydomonas* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2021, 49(4):20-25, 28.
- [32] SPALDING M H. Microalgal carbon-dioxide-concentrating mechanisms: *Chlamydomonas* inorganic carbon transporters [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(7):1463-1473.
- [33] HUANG Y, CHENG J, LU H, et al. Transcriptome and key genes expression related to carbon fixation pathways in *Chlorella* PY-ZUI cells and their growth under high concentrations of CO<sub>2</sub> [J].

- Biotechnology for Biofuels, 2017, 10(1):1-10.
- [34] TANG D, HAN W, LI P, et al. CO<sub>2</sub> biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO<sub>2</sub> levels [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3):3071-3076.
- [35] CHENG J, HUANG Y, FENG J, et al. Improving CO<sub>2</sub> fixation efficiency by optimizing *Chlorella* PY-ZU1 culture conditions in sequential bioreactors[J]. Bioresource Technology, 2013, 144:321-327.
- [36] MONDAL M, GHOSH A, GAYEN K, et al. Carbon dioxide bio-fixation by *Chlorella* sp. BTA 9031 towards biomass and lipid production: Optimization using central composite design approach [J]. Journal of CO<sub>2</sub> Utilization, 2017, 22:317-329.
- [37] COMITRE A A, VAZ B D S, COSTA J A V, et al. Renewal of nanofibers in *Chlorella fusca* microalgae cultivation to increase CO<sub>2</sub> fixation[J]. Bioresource Technology, 2021, 321:124452.
- [38] DUARTE J H, FANKA L S, COSTA J A V. Utilization of simulated flue gas containing CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO and ash for *Chlorella fusca* cultivation [J]. Bioresource Technology, 2016, 214:159-165.
- [39] AGHAALIPOUR E, AKBULUT A, GÜLLÜ G. Carbon dioxide capture with microalgae species in continuous gas - supplied closed cultivation systems[J]. Biochemical Engineering Journal, 2020, 163:107741.
- [40] ANJOS M, FERNANDES B D, VICENTE A A, et al. Optimization of CO<sub>2</sub> bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*[J]. Bioresource Technology, 2013, 139:149-154.
- [41] BASU S, ROY A S, MOHANTY K, et al. Enhanced CO<sub>2</sub> sequestration by a novel microalga; *Scenedesmus obliquus* SAI isolated from bio-diversity hotspot region of Assam, India [J]. Bioresource Technology, 2013, 143:369-377.
- [42] HO S H, CHEN W M, CHANG J S. *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO<sub>2</sub> mitigation and biodiesel production [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22):8725-8730.
- [43] ZHU B, XIAO T, SHEN H, et al. Effects of CO<sub>2</sub> concentration on carbon fixation capability and production of valuable substances by *Spirulina* in a columnar photobioreactor [J]. Algal Research, 2021, 56:102310.
- [44] CARDIAS B B, MORAIS M G D, COSTA J A V. CO<sub>2</sub> conversion by the integration of biological and chemical methods: *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation with diethanolamine and potassium carbonate addition [J]. Bioresource Technology, 2018, 267:77-83.
- [45] TAN Y, FANG M, JIN L, et al. Culture characteristics of the atmospheric and room temperature plasma-mutated *Spirulina platensis* mutants in CO<sub>2</sub> aeration culture system for biomass production [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 120(4):438-443.
- [46] DE MORAIS M G, COSTA J A V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor [J]. Journal of Biotechnology, 2007, 129(3):439-445.
- [47] CHIU S Y, KAO C Y, TSAI M T, et al. Lipid accumulation and CO<sub>2</sub> utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO<sub>2</sub> aeration [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(2):833-838.
- [48] CHIANG C L, LEE C M, CHEN P C. Utilization of the cyanobacteria *Anabaena* sp. CH1 in biological carbon dioxide mitigation processes [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(9):5400-5405.
- [49] SYDNEY E B, STURM W, DE CARVALHO J C, et al. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(15):5892-5896.
- [50] MOGHIMIFAM R, NIKNAM V, EBRAHIMZADEH H, et al. CO<sub>2</sub> biofixation and fatty acid composition of two indigenous *Dunaliella* sp. isolates (ABRIINW-CH2 and ABRIINW-SH33) in response to extremely high CO<sub>2</sub> levels [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2020, 43(9):1587-1597.
- [51] PINEDA-CAMACHO G, GUILLÉN-JIMÉNEZ F D M, PÉREZ-SÁNCHEZ A, et al. Effect of CO<sub>2</sub> on the generation of biomass and lipids by *Monoraphidium contortum*: A promising microalga for the production of biodiesel [J]. Bioresource Technology Reports, 2019, 8:100313.
- [52] WANG Z, WEN X, XU Y, et al. Maximizing CO<sub>2</sub> biofixation and lipid productivity of oleaginous microalga *Graesiella* sp. WBG-1 via CO<sub>2</sub>-regulated pH in indoor and outdoor open reactors [J]. Science of the Total Environment, 2018, 619/620:827-833.
- [53] PATEL V K, MAJI D, PANDEY S S, et al. Rapid budding EMS mutants of *Synechocystis* PCC 6803 producing carbohydrate or lipid enriched biomass [J]. Algal Research, 2016, 16:36-45.
- [54] CHATURVEDI R, FUJITA Y. Isolation of enhanced eicosapentaenoic acid producing mutants of *Nannochloropsis oculata* ST-6 using ethyl methane sulfonate induced mutagenesis techniques and their characterization at mRNA transcript level [J]. Phyiological Research, 2006, 54(3):208-219.
- [55] KAO C Y, CHIU S Y, HUANG T T, et al. A mutant strain of microalga *Chlorella* sp. for the carbon dioxide capture from biogas [J]. Biomass and Bioenergy, 2012, 36:132-140.
- [56] TANADUL O U M, NOOCHANONG W, JIRAKRANWONG P, et al. EMS-induced mutation followed by quizalofop-screening increased lipid productivity in *Chlorella* sp. [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2018, 41(5):613-619.
- [57] LEE T M, TSENG Y F, CHENG C L, et al. Characterization of a heat-tolerant *Chlorella* sp. GD mutant with enhanced photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation efficiency and its implication as lactic acid [J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, 10(1):1-12.
- [58] KUO C M, LIN T H, YANG Y C, et al. Ability of an alkali-tolerant mutant strain of the microalga *Chlorella* sp. AT1 to capture carbon dioxide for increasing carbon dioxide utilization efficiency [J]. Bioresource Technology, 2017, 244:243-251.
- [59] CHENG J, ZHU Y, ZHANG Z, et al. Modification and improvement of microalgae strains for strengthening CO<sub>2</sub> fixation from coal-fired flue gas in power plants [J]. Bioresource Technology, 2019, 291:121850.
- [60] LIU S, ZHAO Y, LIU L, et al. Improving cell growth and lipid accumulation in green microalgae *Chlorella* sp. via UV irradiation



- [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, 175(7): 3507–3518.
- [61] TILLICH U M, LEHMANN S, SCHULZE K, et al. Theoptimal mutagen dosage to induce point – mutations in *Synechocystis* sp. PCC6803 and its application to promote temperature tolerance [J]. *Plos One*, 2012, 7(11): e49467.
- [62] LI F F, YANG Z H, ZENG R, et al. Microalgae capture of CO<sub>2</sub> from actual flue gas discharged from a combustion chamber [J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2011, 50(10): 6496–6502.
- [63] QI F, WU D, MU R, et al. Characterization of amicroalgal UV mutant for CO<sub>2</sub> biofixation and biomass production [J]. *Biomed Research International*, 2018, 2018:4375170.
- [64] KUMAR V, SHARMA N, JAISWAL K K, et al. Microalgae with a truncated light –harvesting antenna to maximize photosynthetic efficiency and biomass productivity: Recent advances and current challenges [J]. *Process Biochemistry*, 2021, 104:83–91.
- [65] 卢鸿翔. 核诱变及碳胁迫促进微藻光合作用及生长固碳的机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [66] AGARWAL R, RANE S S, SAINIS J K. Effects of <sup>60</sup>Co  $\gamma$  radiation on thylakoid membrane functions in *Anacystis nidulans* [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2008, 91(1): 9–19.
- [67] ZHU Y, CHENG J, ZHANG Z, et al. Mutation of *Arthrospira platensis* by gamma irradiation to promote phenol tolerance and CO<sub>2</sub> fixation for coal –chemical flue gas reduction [J]. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 2020, 38:252–261.
- [68] CHENG J, LU H, HE X, et al. Mutation of *Spirulina* sp. by nuclear irradiation to improve growth rate under 15% carbon dioxide in flue gas [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 238:650–656.
- [69] CHENG J, FENG J, CHENG R, et al. Gene expression and metabolic pathways related to cell growth and lipid synthesis in diatom *Nitzschia ZJU2* after two rounds of mutagenesis by  $\gamma$  –rays [J]. *RSC advances*, 2014, 4(54): 28463–28470.
- [70] LU H, CHENG J, WANG Z, et al. Improved photosynthetic characteristics of *Chlorella mutant* MS700 induced by nuclear radiation [J]. *Process Biochemistry*, 2020, 99:154–159.
- [71] WANG X, LIU S F, WANG Z Y, et al. A waste upcycling loop: Two –factor adaptive evolution of microalgae to increase polyunsaturated fatty acid production using food waste [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 331:130018.
- [72] ZHANG S, LIU Z. Advances in the biological fixation of carbon dioxide by microalgae [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2021, 96(6): 1475–1495.
- [73] YE Q, SHEN Y, ZHANG Q, et al. Life –cycle assessment of flue gas CO<sub>2</sub> fixation from coal –fired power plant and coal chemical plant by microalgae [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 848:157728.
- [74] LI D, WANG L, ZHAO Q, et al. Improving high carbon dioxide tolerance and carbon dioxide fixation capability of *Chlorella* sp. by adaptive laboratory evolution [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 185:269–275.
- [75] ASLAM A, THOMAS –HALL S R, MUGHAL T A, et al. Selection and adaptation of microalgae to growth in 100% unfiltered coal –fired flue gas [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 233:271–283.
- [76] CHENG D, LI X, YUAN Y, et al. Adaptive evolution and carbon dioxide fixation of *Chlorella* sp. in simulated flue gas [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 650:2931–2938.
- [77] SINGH CHAUHAN D, SAHOO L, MOHANTY K. Maximize microalgal carbon dioxide utilization and lipid productivity by using toxic flue gas compounds as nutrient source [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 348:126784.
- [78] RADAKOVITS R, JINKERSON R E, DARZINS A, et al. Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production [J]. *Eukaryotic Cell*, 2010, 9(4): 486–501.
- [79] BARATI B, ZENG K, BAEYENS J, et al. Recent progress in genetically modified microalgae for enhanced carbon dioxide sequestration [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2021, 145:105927.
- [80] LI J, PAN K, TANG X, et al. The molecular mechanisms of *Chlorella* sp. responding to high CO<sub>2</sub>: A study based on comparative transcriptome analysis between strains with high –and low –CO<sub>2</sub> tolerance [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 763:144185.
- [81] XU X, GU X, WANG Z, et al. Progress, challenges and solutions of research on photosynthetic carbon sequestration efficiency of microalgae [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2019, 110:65–82.
- [82] WEI L, WANG Q, XIN Y, et al. Enhancing photosynthetic biomass productivity of industrial oleaginous microalgae by over expression of RuBisCO activase [J]. *Algal Research*, 2017, 27: 366–375.
- [83] HO M Y, SHEN G, CANNIFFE D P, et al. Light –dependent chlorophyll f synthase is a highly divergent paralog of PsbA of photosystem II [J]. *Science*, 2016, 353: aaf9178.
- [84] JEONG J, BAEK K, KIRST H, et al. Loss of CpSRP54 function leads to a truncated light –harvesting antenna size in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 2017, 1858(1): 45–55.
- [85] LI W, KANG S. Research status and development ideas of microalgae carbon se –questration technology [J]. *Biotechnol*, 2011, 6:22–27.
- [86] NADUTHODI M I S, CLAASSENS N J, D’ADAMO S, et al. Synthetic biology approaches to enhance microalgal productivity [J]. *Trends in Biotechnology*, 2021, 39(10): 1019–1036.
- [87] NG I S, TAN S I, KAO P H, et al. Recent developments on genetic engineering of microalgae for biofuels and bio –based chemicals [J]. *Biotechnology Journal*, 2017, 12(10): 1600644.
- [88] MISHRA S, JOSHI B, DEY P, et al. CCM in photosynthetic bacteria and marine alga [J]. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2018, 7(6): 928–937.
- [89] HU P, BORGLIN S, KAMENNAYA N A, et al. Metabolic phenotyping of the cyanobacterium *Synechocystis* 6803 engineered for production of alkanes and free fatty acids [J]. *Applied Energy*, 2013, 102:850–859.
- [90] FUJIHASHI M, NISHITANI Y, KIRIYAMA T, et al. Mutation

- design of a thermophilic Rubisco based on three-dimensional structure enhances its activity at ambient temperature [J]. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2016, 84(10):1339-1346.
- [91] YANG B, LIU J, MA X, et al. Genetic engineering of the Calvin cycle toward enhanced photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation in microalgae[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10(1):1-13.
- [92] YANG B, HUANG X, QIN G. Variable selection in ROC curve analysis with focused information criteria[J]. *Statistics and Its Interface*, 2017, 10(2):229-238.
- [93] LIN W R, LAI Y C, SUNG P K, et al. Enhancing carbon capture and lipid accumulation by genetic carbonic anhydrase in microalgae[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2018, 93:131-141.
- [94] HOGETSU D, MIYACHI S. Role of carbonic anhydrase in photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation in *Chlorella* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1979, 20(4):747-756.
- [95] WEI L, SHEN C, EL HAJJAMI M, et al. Knockdown of carbonate anhydrase elevates *Nannochloropsis* productivity at high CO<sub>2</sub> level[J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 54:96-108.
- [96] ZHANG C, LI S, HO S H. Converting nitrogen and phosphorus wastewater into bioenergy using microalgae-bacteria consortia: A critical review [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 342:126056.
- [97] MELIS A. Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: Minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency [J]. *Plant Science*, 2009, 177(4):272-280.
- [98] MELIS A, NEIDHARDT J, BENEMANN J R. *Dunaliella salina* (*Chlorophyta*) with small chlorophyll antenna sizes exhibit higher photosynthetic productivities and photon use efficiencies than normally pigmented cells[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1998, 10(6):515-525.
- [99] SHARON-GOJMAN R, LEU S, ZARKA A. Antenna size reduction and altered division cycles in self-cloned, marker-free genetically modified strains of *Haematococcus pluvialis* [J]. *Algal Research*, 2017, 28:172-183.
- [100] BECKMANN J, LEHR F, FINAZZI G, et al. Improvement of light to biomass conversion by de-regulation of light-harvesting protein translation in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Journal of Biotechnology*, 2009, 142(1):70-77.
- [101] MUSSGUG J H, THOMAS-HALL S, RUPPRECHT J, et al. Engineering photosynthetic light capture: Impacts on improved solar energy to biomass conversion [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2007, 5(6):802-814.
- [102] KIRST H, GARCIA-CERDAN J G, ZURBRIGGEN A, et al. Truncated photosystem chlorophyll antenna size in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* upon deletion of the TLA3-CpSRP43 gene [J]. *Plant Physiology*, 2012, 160(4):2251-2260.
- [103] KROMDIJK J, GLOWACKA K, LEONELLI L, et al. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection[J]. *Science*, 2016, 354:857-861.
- [104] PEROZENI F, CAZZANIGA S, BALLOTTARI M. In vitro and in vivo investigation of chlorophyll binding sites involved in non-photochemical quenching in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2019, 42(8):2522-2535.
- [105] PEROZENI F, STELLA G R, BALLOTTARI M. LHCSR expression under HSP70/RBCS2 promoter as a strategy to increase productivity in microalgae[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1):155.
- [106] GABILLY S T, BAKER C R, WAKAO S, et al. Regulation of photoprotection gene expression in *Chlamydomonas* by a putative E3 ubiquitin ligase complex and a homolog of CONSTANS[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116(35):17556-17562.
- [107] BLANKENSHIP R E, TIEDE D M, BARBER J, et al. Comparing photosynthetic and photovoltaic efficiencies and recognizing the potential for improvement [J]. *Science*, 2011, 332:805-809.
- [108] KOH H G, KANG N K, JEON S, et al. Heterologous synthesis of chlorophyll b in *Nannochloropsis salina* enhances growth and lipid production by increasing photosynthetic efficiency[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2019, 12(1):1-15.
- [109] TRINUGROHO J P, BECKOVÁ M, SHAO S, et al. Chlorophyll f synthesis by a super-rogue photosystem II complex [J]. *Nature Plants*, 2020, 6(3):238-244.
- [110] ANILA N, SIMON D P, CHANDRASHEKAR A, et al. Metabolic engineering of *Dunaliella salina* for production of ketocarotenoids [J]. *Photosynthesis Research*, 2016, 127(3):321-333.
- [111] FU W, CHAIBONCHOE A, KHRAIWESH B, et al. Intracellular spectral repositioning of light enhances algal photosynthetic efficiency [J]. *Science Advances*, 2017, 3(9):e1603096.
- [112] CHEAH W Y, SHOW P L, CHANG J S, et al. Biosequestration of atmospheric CO<sub>2</sub> and flue gas-containing CO<sub>2</sub> by microalgae[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 184:190-201.
- [113] RAMANAN R, KANNAN K, DESHKAR A, et al. Enhanced algal CO<sub>2</sub> sequestration through calcite deposition by *Chlorella* sp. and *Spirulina platensis* in a mini-raceway pond [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(8):2616-2622.
- [114] ZHOU J, ZHANG F, MENG H, et al. Introducing extra NADPH consumption ability significantly increases the photosynthetic efficiency and biomass production of cyanobacteria [J]. *Metabolic Engineering*, 2016, 38:217-227.
- [115] HU G, ZHOU J, CHEN X, et al. Engineering synergetic CO<sub>2</sub>-fixing pathways for malate production [J]. *Metabolic Engineering*, 2018, 47:496-504.
- [116] CLAASSENS N J. A warm welcome for alternative CO<sub>2</sub> fixation pathways in microbial biotechnology [J]. *Microbial Biotechnology*, 2017, 10(1):31-34.
- [117] BAR-EVEN A. Daring metabolic designs for enhanced plant carbon fixation [J]. *Plant Science*, 2018, 273:71-83.
- [118] LAU Z L, LOW S S, EZEIGWE E R, et al. A review on the diverse interactions between microalgae and nanomaterials: Growth variation, photosynthetic performance and toxicity [J]. *Biore-*

- source Technology, 2022, 351:127048.
- [119] LIU X Q, TANG R Z. Biological responses to nanomaterials: Understanding nano-bio effects on cell behaviors[J]. Drug Delivery, 2017, 24(2):1-15.
- [120] CHEN F, XIAO Z, YUE L, et al. Algae response to engineered nanoparticles: Current understanding, mechanisms and implications [J]. Environmental Science: Nano, 2019, 6(4): 1026-1042.
- [121] CHENG J, ZHU Y, LI K, et al. Calcinated MIL-100(Fe) as a CO<sub>2</sub> adsorbent to promote biomass productivity of *Arthrospira platensis* cells [J]. Science of The Total Environment, 2020, 699:134375.
- [122] CHENG J, ZHU Y, XU X, et al. Enhanced biomass productivity of *Arthrospira platensis* using zeolitic imidazolate framework-8 as carbon dioxide adsorbents [J]. Bioresource Technology, 2019, 294:122118.
- [123] ROSA G M D, MORAIS M G D, COSTA J A V. Green algae cultivation with monoethanolamine: Evaluation of CO<sub>2</sub> fixation and macromolecule production [J]. Bioresource Technology, 2018, 261:206-212.
- [124] VAZ B D S, COSTA J A V, MORAIS M G D. Innovative nanofiber technology to improve carbon dioxide biofixation in microalgae cultivation [J]. Bioresource Technology, 2019, 273: 592-598.
- [125] DA SILVA VAZ B, COSTA J A V, DE MORAIS M G. Physical and biological fixation of CO<sub>2</sub> with polymeric nanofibers in outdoor cultivations of *Chlorella fusca* LEB 111 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 151:1332-1339.
- [126] ZHANG M, WANG H, SONG Y, et al. Pristine carbon dots boost the growth of *Chlorella vulgaris* by enhancing photosynthesis [J]. ACS Applied Bio Materials, 2018, 1(3): 894-902.
- [127] NGUYEN M K, KIM M K, MOON J Y, et al. Influence of chitosan-based carbon dots added in MgAC-containing culture medium on green alga *Tetraselmis* sp. [J]. Journal of Applied Phycology, 2021, 33(2):765-775.
- [128] YANG L, SU Q, SI B, et al. Enhancing bioenergy production with carbon capture of microalgae by ultraviolet spectrum conversion via graphene oxide quantum dots [J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 429:132230.
- [129] KSIĄŻYK M, ASZTEMBORSKA M, STĘBOROWSKI R, et al. Toxic effect of silver and platinum nanoparticles toward the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2015, 94(5):554-558.
- [130] LI X, SUN H, MAO X, et al. Enhanced photosynthesis of carotenoids in microalgae driven by light-harvesting gold nanoparticles [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2020, 8(20):7600-7608.