

斜生栅藻生物转化咖啡渣废弃物的应用研究

谢武强¹, 刘孝文², 郑晰瑞¹, 贺杠¹, 师玉璞³, 刘思芬^{2*}

(1. 陕煤集团榆林化学有限责任公司, 陕西榆林 719000)(2. 暨南大学生命科学技术学院, 广东广州 510632)

(3. 西安科技大学材料科学与工程学院, 陕西西安 710054)

摘要: 咖啡渣 (Spent Coffee Grounds, SCG) 作为咖啡生产过程中的副产物, 其妥善处理对于资源利用及环境保护意义重大。为了探索咖啡渣废弃物的生物处理, 该研究选用生长迅速、抗逆性强的淡水微藻——斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*, FACHB-417)。咖啡渣经过提油、酶水解处理调制成培养基以培养斜生栅藻, 实验结果表明, 咖啡渣的油脂得率占咖啡渣干重的比例可达 12.2 wt.%。与常规培养基 (BG11) 相比, 咖啡渣水解液组 (SCG10) 中斜生栅藻的生物质积累及碳水化合物相对含量最高分别提升 6.38 倍和 3.09 倍。斜生栅藻实现了对咖啡渣中碳源的利用以积累生物质和碳水化合物, 还实现了对咖啡因的生物降解, 其代谢物 1,3,7- 三甲基尿酸在 SCG10 组是 BG11 组的 28.22 倍。该研究表明斜生栅藻实现了对咖啡渣的资源化利用并生物降解咖啡因, 为咖啡渣的资源化利用并生成藻基营养物质提供了一种经济环保的新途径。

关键词: 斜生栅藻; 资源循环利用; 咖啡渣; 水解液; 营养物质

文章编号: 1673-9078(2026)5-294-304

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.5.1949

Biotransformation of Spent Coffee Grounds by *Scenedesmus obliquus* for Resource Utilization

XIE Wuqiang¹, LIU Xiaowen², ZHENG Xirui¹, HE Gang¹, SHI Yupu³, LIU Sifen^{2*}

(1. Yulin Chemical Co. Ltd., Shaanxi Coal Group, Yulin 719000, China)

(2.College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

(3.College of Materials Science and Engineering, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, China)

Abstract: Spent coffee grounds (SCG) are a major byproduct of the coffee industry, and their proper disposal is important for resource utilization and environmental protection. *Scenedesmus obliquus* (FACHB-417), a microalga with rapid proliferation and strong stress tolerance, was selected to investigate the biological treatment of SCG. SCG were first subjected to oil extraction and enzymatic hydrolysis to prepare culture media for the cultivation of *S. obliquus*. The results showed that the oil yield from SCG reached 12.2 wt.% of dry weight. Compared with the control group (BG11), biomass accumulation and relative carbohydrate content of *S. obliquus* in the SCG hydrolysate group (SCG10) increased by up to 6.38-fold and 3.09-fold, respectively. *S. obliquus* effectively utilized carbon sources derived from SCG to promote biomass and carbohydrate accumulation, while simultaneously achieving the biodegradation of caffeine. The concentration of the caffeine metabolite 1,3,7-trimethyluronic acid increased by 28.22-fold in the SCG10 group compared with that in the BG11 group. These findings demonstrate that *S. obliquus* enables both the resource

引文格式:

谢武强,刘孝文,郑晰瑞,等.斜生栅藻生物转化咖啡渣废弃物的应用研究[J].现代食品科技,2026,42(5):294-304.

XIE Wuqiang, LIU Xiaowen, ZHENG Xirui, et al. Biotransformation of spent coffee grounds by *Scenedesmus obliquus* for resource utilization [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(5): 294-304.

收稿日期: 2024-12-30; 修回日期: 2025-06-09; 接受日期: 2025-06-16

基金项目: 教育部产学合作协同育人项目 (230804132283153)

作者简介: 谢武强 (1981-) 男, 高级工程师, 研究方向: 固废综合利用, E-mail: xiewq@shccig.com

通讯作者: 刘思芬 (1996-) 女, 博士, 研究方向: 微藻资源化利用, E-mail: liusf@jnu.edu.cn

utilization of SCG and the biodegradation of caffeine, providing a potentially economical and environmentally friendly strategy for SCG valorization and the production of algal-based nutrients.

Key words: *Scenedesmus obliquus*; resource utilization; spent coffee grounds; hydrolysates; nutrients

咖啡是全球备受欢迎的饮料之一,随着咖啡消费量逐年增加,咖啡渣面临着巨大的资源处置难题^[1]。不同于其他有机废弃物,咖啡渣中含有咖啡因、酚类化合物、有机污染物等有害物质,现有的最主要处理方式是填埋,而填埋过程会导致甲烷的释放,对气候变化产生巨大威胁^[2]。不恰当的处理方法会引发酵,导致有害物质释放,污染附近的土壤和水源^[3]。因此,合理处理咖啡渣能够减轻环境压力,实现资源循环利用。咖啡渣富含大量有机化合物,如脂质、碳水化合物、咖啡因、单宁、酚类化合物、木质素、纤维素、半纤维素和其他多糖等^[4]。一些新兴的研究将咖啡渣用于食品添加剂、烘焙、美妆业和能源行业,展现出巨大的应用潜力。合理资源化利用咖啡渣将带来巨大的经济效益,实现废弃资源的高效转化和利用。

微藻是单细胞光合生物,能够通过光合作用固定大气中的 CO₂ 积累生物质,具有生长速度快、抗逆性强的特点^[5,6]。当然小球藻、栅藻、三角褐指藻等微藻还可利用有机碳源积累生物质^[7]。微藻生物质可生产生物燃料、优质蛋白质、碳水化合物、抗氧化剂、色素等^[8],并被广泛应用于绿色能源、食品、制药、化妆品、饲料等行业^[9]。微藻生物质的营养组成会随生长条件的变化而改变,不同的营养结构使其作为膳食微藻适用于各种水产养殖和畜牧生产。藻类特有的优质脂肪酸和蛋白质根据食物链传递在鱼虾、畜牧、家禽等高级生物中积累,并提高肉类品质^[10]。此外,藻类替代传统的作为营养物质的大豆和玉米,可以缓解当前耕地面积紧张的现状。

斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 因其适应性强被广泛用于净化各种有机工业废水^[11,12]。斜生栅藻对咖啡渣的资源循环利用具有一举两得的效果。一方面斜生栅藻利用咖啡渣中的有机物积累生物质作为营养物质;另一方面,可实现生物处理咖啡渣水解液中的有害物质。在本实验中,首先提取咖啡渣中的脂质,然后对脱脂咖啡渣进行酸水解和酶水解。这样既回收了咖啡渣油脂,又获得富含单糖的咖啡渣水解液。再用水解液培养斜生栅藻以积累藻基生物质,藻基生物质被证实具有降血脂、降血糖和降低血浆中胆固醇浓度等能力,具食品安全性;部分微藻,例裸藻和小球藻已经通过美国食品药品监督管理局风险评估,批准多种微藻作为食品或食品来源^[13]。实验中对咖啡渣油、水

解液以及斜生栅藻的生理生化指标进行分析。通过本研究实现了对咖啡渣的资源循环利用,并通过生物精炼积累藻基活性物质。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用咖啡渣取自某品牌咖啡馆中;甲苯、氢氧化钠、甲醇、苯酚、碳酸钾、正己烷、氯仿、乙酰氯、浓硫酸,均购于广州化学试剂厂;纤维素酶和淀粉酶,购于诺维信公司;Amplite 荧光 NADPH 检测试剂盒,购于 AAT Bioquest 公司;ATP 检测试剂盒、RIPA 裂解液和 BCA 蛋白浓度测定试剂盒,均购于上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 仪器

GZX-9070MBE 电热鼓风干燥箱,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;QL-901 涡旋混合器,江苏其林贝尔仪器制造有限公司;TTL-DCII 多功能氮吹仪,北京同泰联科技公司 FA1140 电子天平,上海精密科学仪器有限公司;DK-8D 恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司;Centrifuge 5418 高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;Agilent 7890B-7000C 气相色谱-质谱联用仪,安捷伦科技(中国)有限公司;SW-CJ-IBU 超净工作台,苏州净化设备有限公司;MLS-3750 灭菌锅,日本 SANYO 公司;CD2105 智能人工气候培养箱,宁波江南仪器厂;DMI 3000B 光学显微镜,德国 Leica 公司;Walz 浮游植物分类荧光仪,上海泽泉科技股份有限公司;移液枪(量程:0.1~2 μL;0.5~10 μL;10~100 μL;100~1 000 μL);艾本德中国有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 咖啡渣中的脂质提取

从广东省广州市天河区某咖啡馆获取咖啡渣,烘干至恒重。该咖啡渣是由阿拉比卡豆经过烘焙后产生的,具有低咖啡因高糖分的特点。利用咖啡渣油的脂溶性,参照 Zayed 等^[14]的实验方法,向 10 g 咖啡渣中加入 40 mL 甲醇,涡旋 5 min;接着加入 30 mL 正己烷,再次涡旋 5 min;静置待液体分层后,取上层正己烷置于试管中。然后再用正己烷重复提取两次。将所有正己烷收集到一个预先称重的试管中,用 N₂ 气流吹干至

恒重, 试管中残留的部分即为从 10 g 咖啡渣中提取的脂质, 进行称重定量。

1.3.2 水解脱脂咖啡渣

将前述脱脂咖啡渣烘干至恒重。向 100 mL $\varphi=1\%$ H_2SO_4 中加入 10 g 脱脂咖啡渣, 于 121 °C 下处理 30 min 进行酸水解。待温度降至室温后, 使用氢氧化钠调节 pH 值至 4.6。接着加入 $\varphi=2\%$ 纤维素酶和 $\varphi=1\%$ 淀粉酶, 在 50 °C、200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下进行 24 h 酶水解。随后 100 °C 下处理 5 min, 使酶失活。

1.3.3 配置斜生栅藻培养基

BG11 培养基根据中科院水生生物所的配方配制。在配制培养基时, 在每升 BG11 培养基中分别加入 10 g 或 20 g 脱脂咖啡渣对应的水解液, 再进行定容, 分别命名为 SCG10 和 SCG20。所有培养基均采用 0.22 μm 滤膜过滤除菌。

1.3.4 藻株和培养条件

斜生栅藻 (藻种编号: FACHB-417) 购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。将斜生栅藻以 1×10^6 $\text{cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的初始密度接种至 BG11、SCG10 以及 SCG20 培养基中, 用锥形瓶进行培养, 置于人工气候培养箱内。培养条件设定为: 温度 (25 $\pm$ 1) °C, 光照强度 200 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光/暗周期为 12/12 小时, 每日手动摇瓶不少于 3 次。

1.4 分析与测试

1.4.1 脂肪酸成分分析

参照 Wang 等^[15]的方法, 将咖啡渣油中的脂肪酸经过甲酯化后分析其脂肪酸成分。收藻后加入 500 μL 甲苯, 2 mL 2 wt.% 的氢氧化钠/甲醇溶液, 涡旋混匀后 80 °C 水浴 15 min。室温冷却后加入 2 mL 的乙酰氯: 甲醇 (1:10) 溶液, 涡旋混匀后 80 °C 水浴 15 min。室温冷却后加入 1 mL 6 wt.% 的碳酸钾溶液, 1 mL 正己烷, 涡旋混匀后低速离心分层。取上清液至新的棕色小样瓶中, 用气相色谱-质谱联用仪检测脂肪酸成分和含量。

1.4.2 光合作用和能量分析

通过测量斜生栅藻叶绿素荧光参数、光系统 II 的功能检测和光响应曲线的测定与绘制。参照 Liu 等^[16]的方法, 使用 PhytoPAM 浮游植物分类荧光仪分析斜生栅藻的光合效率。固定时间取 5 mL 新鲜藻液置于黑暗环境中适应 10 min, 然后用 200 ms、1 000 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的光脉冲处理斜生栅藻, 得到 PS II 最大光化学量子产量 (F_v/F_m)。分别检测斜生栅藻在暗适应和光照条件下的最大瞬时荧光为 F_m

和 F_m' , 计算非光化学淬灭系数 (NPQ) 为 $(F_m-F_m')/F_m'$ 。在 0 至 2 000 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的范围内, 每隔 20 s 增加一次光强, 记录电子传递速率, 根据光强和电子传递速率绘制曲线, 通过曲线测量最大电子传递速率 ($r\text{ETR}_{\text{max}}$)。叶绿素 a 含量用 PhytoPAM 浮游植物分析仪测定。ATP 含量和 NADPH 含量通过取 20 mL 藻液、离心、收集藻泥、破碎细胞后随即进行检测分析。ATP 含量根据 ATP 分析试剂盒的说明进行测定。NADPH 含量根据 Amplitude™ 比色 NADPH 分析试剂盒的说明进行测定。

1.4.3 微藻生长及初级代谢物分析

斜生栅藻的细胞密度测定采用血小板计数方法, 每天取样 1 mL 新鲜藻液检测分析; 分别在培养的第 5、7、9、11 天取 50 mL 藻液离心收集藻泥、60 °C 烘干至恒重、称重、计算斜生栅藻的干重质量。参照 Liu 等^[16]的方法, 在第 5、7、9 天取藻液, 离心收集藻泥, 再对斜生栅藻的初级代谢物进行分析, 碳水化合物取样 10 mL; 蛋白质检测取样 10 mL; 脂质检测取样 50 mL。参照前方法进行测定^[15,16], 总碳水化合物根据苯酚硫酸法测定。蛋白质提取试剂盒提取总蛋白, 蛋白质含量根据 BCA 蛋白检测试剂盒测定。脂质含量根据甲醇和氯仿提取后称重测定。

1.4.4 非靶代谢组分析

收集 BG11 和 SCG10 培养基中的斜生栅藻, 取 100 μL 体积的藻泥至离心管中, 与 400 μL 预冷甲醇 (-20 °C) 振荡混匀 1 min, 12 000 $\times g$ 4 °C 离心 10 min, 收集上清液真空浓缩干燥, 沉淀用 150 μL 2-氯苯丙氨酸 (4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) $\varphi=80\%$ 甲醇溶液复溶, 0.22 μm 膜过滤即为待测样本。采用 Thermo Ultimate 3000 超高效液相系统, 配备 HSS T3 色谱柱 (2.1 $\times$ 150 mm, 1.8 μm), 柱温 40 °C, 流量 0.25 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量 2 μL 。正离子模式: $\varphi=0.1\%$ 甲酸乙腈/水梯度洗脱 ($\varphi=2\%\sim 98\%$); 负离子模式: 乙腈/5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵水梯度洗脱 ($\varphi=2\%\sim 98\%$)。采用 Thermo Q Exactive Focus 质谱仪, ESI 正负离子模式检测。正/负离子电压分别为 3.50~2.50 kV, 鞘气 30 arb, 辅助气 10 arb, 毛细管温度 325 °C。一级全扫描分辨率 70 000 (m/z 81~1 000), 二级扫描分辨率 17 500 (HCD 30 eV), 同时动态排除冗余 MS/MS 信息。根据检测代谢物的质荷比和丰度, 分析代谢物的分子结构。筛选出差异显著的代谢物并比对数据库确定其结构和名称。

1.4.5 统计分析

所有实验均设置三个重复样本, 运用 GraphPad Prism 软件对实验数据展开分析, 结果以平均数 $\pm$ 标

准差呈现。在 BG11、SCG10、SCG20单因素三组之间比较时采用单因素方差分析；BG11、SCG10 组间比较时采用独立样本 *t* 检验。组间差异显著性以 $P<0.05$ (*), $P<0.01$ (**), $P<0.005$ (***), $P<0.001$ (****) 表示或字母标记法表示。

2 结果与讨论

2.1 咖啡渣油的提取及成分分析

从咖啡渣中提取油的得率为 12.2 wt.%。图 1a 中的三个样品瓶分别为咖啡渣、脱脂咖啡渣和咖啡渣油。对咖啡渣油的脂肪酸组成成分进行分析（图 1b），结果显示，棕榈酸（C16:0）的相对含量最高，其占比达 48.36 wt.%；其他含量较高的脂肪酸依次为亚油酸（C18:2）、油酸（C18:1）和硬脂酸（C18:0），占比分别为 29.4 wt.%、11.2 wt.% 和 8.9 wt.%。Zayed 等^[14]和 Mohammed 等^[17]的研究结果表明，不同的萃取溶剂提取咖啡渣油，其得率在 8.60 wt.%~15.28 wt.% 之间，含量最高的两种脂肪酸主要是棕榈酸（C16:0）和亚油酸（C18:2）。

对于提取的咖啡渣油，最佳用途是用作生物柴油。因此，根据脂肪酸的组成成分对咖啡渣油进行了生物柴油特性分析（表 1），包括皂化值（SV）、碘值（IV）、十六烷值（CN）、不饱和度（DU）、长链饱和因子（LCSF）、高热值（HHV）、冷流堵塞点（CFPP）、运动粘度（kV）和氧化稳定性（OS）。表 1 展示了咖啡渣油的生物柴油特性，同时以商用生物柴油以及美国（ASTM D6751-08）、欧盟（EN 14214）和中国

（GB252-2011）的生物柴油标准为参考，除 CFPP 外，其他指标均符合标准。对此，咖啡渣油可以作为生产生物柴油的替代原料。各种废弃物已经被研究人员探索生产生物柴油，例如，农业、工业、城市垃圾、废弃食用油和动物脂肪、藻类等，实现新兴可再生能源的生产^[18]。

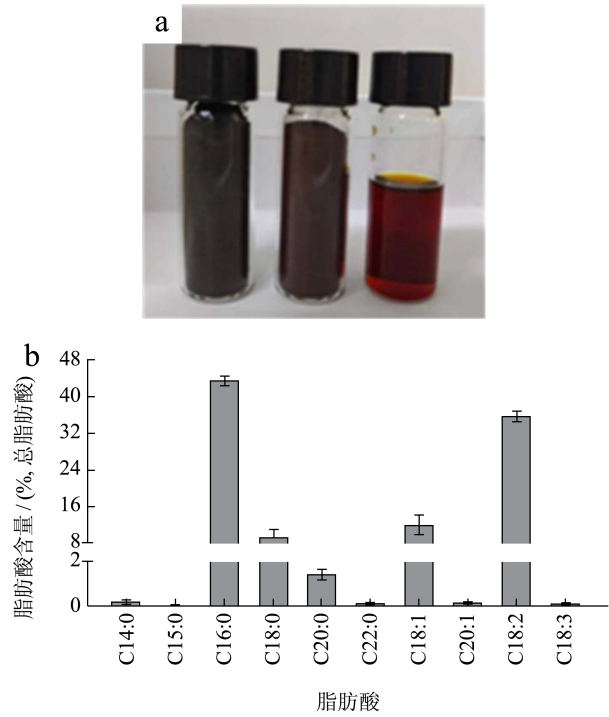


图 1 咖啡渣及其油的脂肪酸成分分析
Fig.1 Coffee residues and fatty acid composition analysis of it's oil

注: a 图从左到右分别为: 咖啡渣、脱脂咖啡渣和咖啡渣油;
b 为咖啡渣油脂肪酸成分分析。

表 1 SCG中提取的脂质的生物柴油特性
Table 1 Biodiesel properties of the lipids extracted from SCG

柴油特性	咖啡渣油	商用生物柴油	ASTM D6751-08	EN 14214	GB252-2011
IV/(g I ₂ /100 g)	62.61	130	120 (max)	120 (max)	—
SV/(mg KOH)	205.42	—	370 (max)	—	—
CN	56.91	45~55	47 (min)	51 (min)	≥49
DU/wt. %	70.43	—	—	—	—
LCSF/wt. %	29.62	—	—	—	—
HHV/(MJ·kg ⁻¹)	40.07	37.3	40	≤5/≤-20	—
CFPP/℃	84.73	-5	5	-5~-15	—
kV/(mm ² ·s ⁻¹)	4.78	4	1.9~6	3.5~5	1.6~9
OS/h	6.58	4	—	≥6	—

2.2 低质量浓度咖啡渣水解液促进斜生栅藻积累生物物质

咖啡渣富含碳水化合物，占咖啡渣总重量的45.3 wt.%^[19]。经过酸水解和酶水解后水解液中富含单糖。Neha 等^[20]的研究表明，适合斜生栅藻生长的单糖种类繁多，例如葡萄糖与甘露糖均可作为斜生栅藻的有机碳源，用于生物物质积累。此外，半乳糖和阿拉伯糖比无机碳源更有效促进斜生栅藻的生长。

不同质量浓度咖啡渣水解液对斜生栅藻的细胞密度和生物量积累情况如图 2a 和 2b 所示。结果表明 SCG10 显著促进斜生栅藻的生长和积累生物物质，而 SCG20 具抑制效果。SCG20 培养的斜生栅藻在 11 天里细胞密度和生物量均显著低于 BG11 组。SCG10 培养的斜生栅藻在第 9 天进入生长稳定期，此时细胞密度和生物量达到最高值，分别为 $2.88\times10^6\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.37\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，是 BG11 组的 5.70 倍和 6.34 倍。斜生栅藻利用咖啡渣中的有机碳源积累生物物质，且斜生栅藻利用有机碳源异养比光合自养更有利于积累生物物质^[21]。咖啡渣中还残留有大量的酚类物质，不同品种的咖啡豆的多酚含量为 $332\sim439\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ；咖啡渣中的多酚含量可达 $6.35\sim8.14\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[22]，且过高含量的酚类物质不利用微藻积累生物物质^[23]。对于高质量浓度 SCG20 对斜生栅藻的抑制现象推测是 SCG20 中过多的酚类物质抑制了斜生栅藻的生长。

为分析斜生栅藻对水解液中单糖的利用情况，在培养斜生栅藻前和培养第 9 天后取 SCG10 培养基的上清液检测单糖成分及质量浓度（表 2）。结果显示 SCG10 培养基的单糖质量浓度为 $3.88\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，主要由甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成，质量浓度分别为 1.72、1.09 和 $0.82\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，分别占单糖总量的 44.18 wt.%、28.08 wt.% 和 21.11 wt.%。其他单糖组分分别为阿拉伯糖、木糖、鼠李糖和岩藻糖，其质量浓度分别为 152.22、17.89、17.45 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2.95\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。当斜生栅藻在 SCG10 培养基中生长到稳定期时，培养基中的葡萄糖几乎耗尽；甘露糖消耗约 50%；半乳糖消耗约 15%。在第 9 天至第 11 天之间，尽管培养基中还有甘露糖和半乳糖，但斜生栅藻的生物物质积累呈减缓趋势。推测葡萄糖是斜生栅藻积累生物物质的最佳有机碳源，其次是甘露糖和半乳糖。Takeda 等^[24]发现斜生栅藻可以利用培养基中的葡萄糖、甘露糖和半乳糖，并且这三种单糖均在斜生栅藻的刚性壁中发现，对维持细胞形态和保护细胞内部结构具有重要作用。咖啡渣中半乳甘露聚糖含量丰富，是富有前途的生产半乳甘露聚糖的生产原料^[25]。

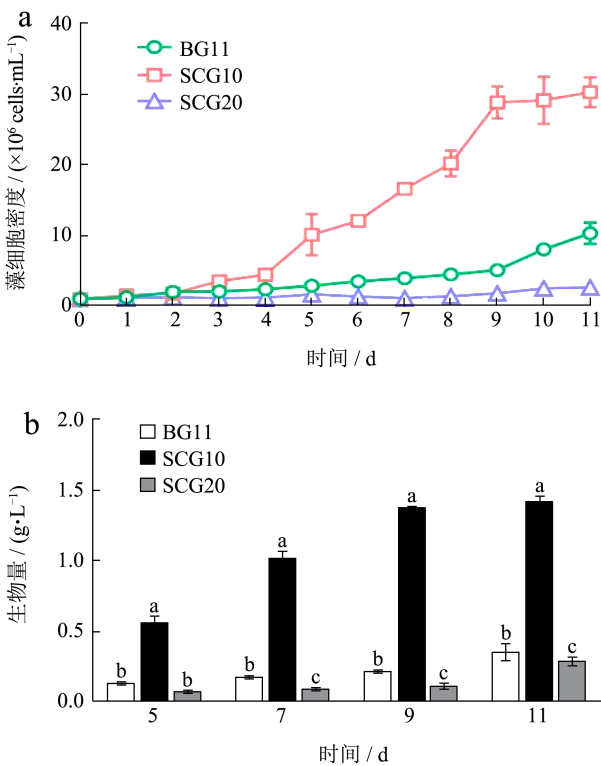


图 2 斜生栅藻在各培养基中的细胞密度和生物量
Fig.2 Cell density and Biomass of *S. obliquus* in each culture medium
注：a 为细胞密度；b 为生物量。图中不同小写字母表示有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 2 SCG10培养基在培养斜生栅藻前和培养9天后
的单糖成分分析

Table 2 Analysis of monosaccharide composition in SCG10 medium before and after 9 days of cultivation of *S. obliquus*

单糖成分	培养前的单糖质量浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	培养后的单糖质量浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$
葡萄糖	1 090.28	25.18
甘露糖	1 715.79	860.00
半乳糖	819.65	694.71
阿拉伯糖	152.22	147.57
木糖	17.89	16.51
鼠李糖	17.45	19.94
岩藻糖	2.95	2.54
核糖	1.82	2.27
葡萄糖醛酸	59.70	45.91
半乳糖醛酸	5.20	4.93

2.3 咖啡渣水解液降低斜生栅藻的光合效率

Fv/Fm 代表光合系统 II 的最大光合效率，反映斜生栅藻潜在的最大光能转换效率^[26]。非光化学淬灭 (NPQ) 由斜生栅藻热耗散引起的荧光淬灭，NPQ 值体现斜生栅藻将过多光能转化为热能的能力，反映其

光保护能力^[26]。相对电子传递速率 (rETR) 指经过光合系统 II 的相对电子流速, 潜在最大相对电子传递速率 (rETR_{max}) 是依据 rETR 拟合出的潜在最大电子传递速率, 反映光合能力。

研究结果显示, 在 BG11 中生长的斜生栅藻的 Fv/Fm 在整个生长周期均约为 0.71; 而 SCG10 组的 Fv/Fm 在生长周期中显著低于 BG11 组, 前 5 天的 Fv/Fm 为 0.67, 随后从对数期到稳定期逐渐下降至 0.64 (图 3a)。SCG10 培养的斜生栅藻的 NPQ 值显著低于 BG11 组 (图 3b)。BG11 组的 NPQ 值基本稳定在 0.22~0.27 之间; SCG10 组的 NPQ 值在第一天最高为 0.12, 随后逐渐降低, 第五天稳定在 0.03。BG11 和 SCG10 培养的斜生栅藻的 NPQ 值呈倍数差异。BG11 组的 rETR_{max} 呈现先升高后降低的趋势; SCG10 组的 rETR_{max} 基本呈现先平稳后逐渐下降的趋势。BG11 和 SCG10 培养的斜生栅藻的 rETR_{max} 在前 3 天相差不大, 基本在 180~200 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 之间 (图 3c)。但第 5 天及之后, BG11 组的 rETR_{max} 明显高于 SCG10 组, rETR_{max} 值在第 5、7 和 9 天分别是 SCG10 组的 1.66、1.55 和 2.00 倍。Fv/Fm、NPQ 和 rETR_{max} 结果均表明咖啡渣水解液对斜生栅藻的光合效率造成不利影响。影响

斜生栅藻光合参数的因素有很多, 营养限制、光照强度和培养基中的磷酸盐均会影响微藻的光合作用, 并且这些光合指标也反应了微藻的生理状态^[27]。例如, 微芒藻在白天强光照条件下其 NPQ 稳定在 0.25~0.55, 而夜间在 0.15 以下; rETR_{max} 在白天为 200~250 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 夜间降低至 30~50 $\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}^[28]。SCG10 组 NPQ 较 BG11 组呈急剧下降趋势, 推测主要是 SCG10 组培养基的颜色减弱斜生栅藻接触到的光照, 从而降低斜生栅藻的光合效率。$

叶绿素 a 是光合作用的主要参与者, 被视作将无机物转化为有机物能力的重要指标^[26]。研究结果表明, 与 BG11 培养基相比, SCG10 培养的斜生栅藻的叶绿素 a 含量显著降低 (图 3d)。BG11 组的叶绿素 a 在第 5 天、第 7 天、第 9 天分别是 SCG10 组的 4.78、2.90、3.71 倍。光照是影响斜生栅藻胞内叶绿素含量的重要因素。不同颜色的光照对微藻生长、胞内化合物组成和叶绿素含量均带来显著差异^[29]。咖啡因被证实影响蓝藻和微藻的光合效率^[30]。因此, SCG10 因咖啡渣水解液的加入呈咖啡褐色以及咖啡渣水解液中含有的咖啡因物质, 影响斜生栅藻对不同波长光的吸收进而影响其光合效率。

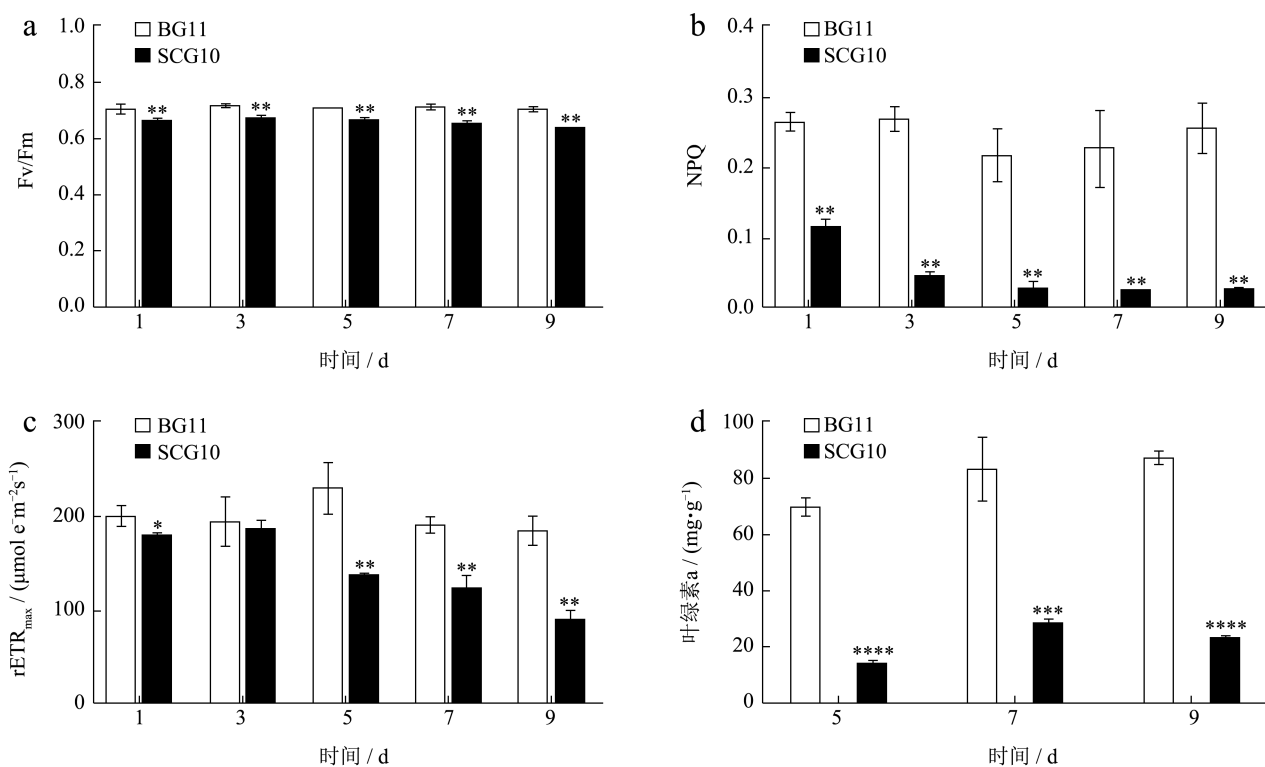


图 3 BG11 和 SCG10 组中斜生栅藻不同生长时期的光合作用参数

Fig.3 Photosynthetic parameters of *S. obliquus* at different growth stages in the group of BG11 and SCG10

注: * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异非常显著 ($P < 0.01$); *** 表示差异极其显著 ($P < 0.001$), **** 表示差异极其显著 ($P < 0.0001$), 下同。

2.4 咖啡渣水解液降低斜生栅藻胞内的NADPH和ATP含量

ATP 和 NADPH 是斜生栅藻的能量重要载体,是藻细胞生长、增殖及生命活动所必需^[31]。NADPH 在生物合成途径及抗氧化活动中发挥重要作用;ATP 的消耗与代谢活动密切相关。BG11 培养的斜生栅藻的 NADPH 相对含量相对稳定,处于 $118\sim 126\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 生物量之间(图 4e)。SCG10 组的 NADPH 相对含量呈逐渐下降趋势,从第 5 天的 $133\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 生物量下降至第 7 天的 $95\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 生物量和第 9 天的 $67\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 生物量。第 5 天,SCG10 组的 NADPH 相对含量高于 BG11 组;但在第 7 天和第 9 天,其含量低于 BG11 组。在 SCG10 中的斜生栅藻的 ATP 相对含量显著低于 BG11 组。SCG10 组的 ATP 相对含量均低于 $1\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 生物量,而 BG11 组的 ATP 相对含量均高于 $10\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 生物量。且在生长末期呈降低趋势。在第 5 天、第 7 天和第 9 天,生长在 BG11 中的斜生栅藻的 ATP 相对含量分别是 SCG10 的 54.24 倍、57.57 倍和 75.44 倍。

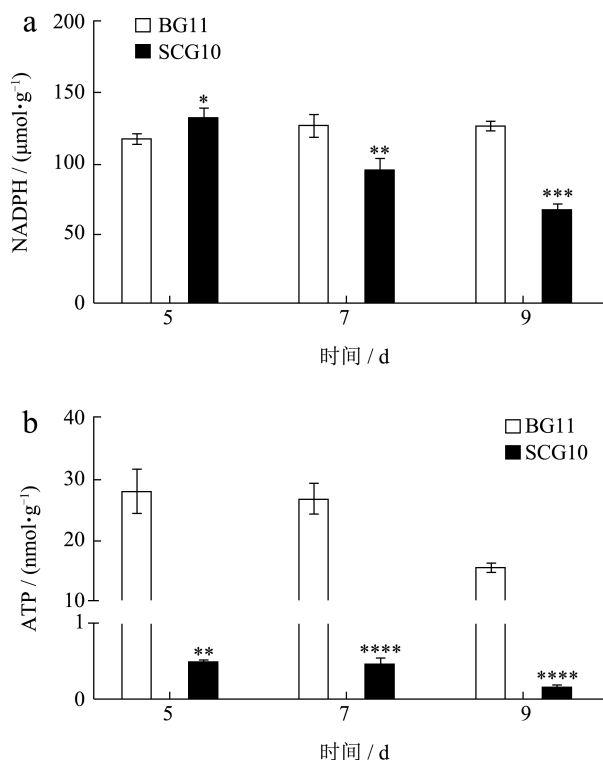


图 4 不同生长时期斜生栅藻胞内能量载体的含量

Fig.4 The content of intracellular energy carriers in *S. obliquus* at different growth stages

ATP 和 NADPH 在光合作用中是斜生栅藻光反应的产物,为暗反应提供能量和还原力,两者的含量和比例都会影响着光合作用。ATP 和 NADPH 在细胞呼

吸中提供能量和调节氧化还原反应。影响斜生栅藻光合作用的因素很多,氧气浓度、光照强度和 CO_2 浓度等^[32]。不同物种间的光合效率也存在差异,如莱茵衣藻在有氧条件下,其胞内 ATP 含量为 $130\ \text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$ 叶绿素;不同条件下 NADPH 的含量在 $1.92\sim 2.71\ \text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$ 叶绿素^[33]。而维管植物大麦的 ATP 在各种不同条件下其 ATP 含量在 $15\sim 70\ \text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$ 叶绿素, NADPH 的含量为 $4\sim 15\ \text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$ 叶绿素^[33]。推测 SCG10 组 NADPH 和 ATP 相对含量降低的主要原因,一方面是 SCG10 组培养基颜色影响光照强度降低光合效率使生长周期中斜生栅藻的光电传递链生成的 ATP 和 NADPH 呈现逐渐下降的趋势。另一方面,咖啡因作为一种生物碱,高浓度的咖啡因会降低微藻光合效率,影响斜生栅藻的生长和生物量积累^[34]。

2.5 咖啡渣水解液调节斜生栅藻初级代谢物,促进碳水化合物积累

斜生栅藻胞内碳水化合物、蛋白质和脂质的组成受营养模式、温度、pH 值等因素的影响。光合自养条件下,斜生栅藻利用光照和 CO_2 作为能源维持生命活动并积累生物质。添加适宜的有机碳源后,斜生栅藻也可利用有机碳源积累生物质。Singh 等^[35]对斜生栅藻的研究表明,葡萄糖是斜生栅藻的最佳有机碳源,当葡萄糖的添加质量浓度为 $3.3\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,斜生栅藻积累的生物量和碳水化合物含量最高。

由图 5a 和 5b 可知, BG11 组斜生栅藻的碳水化合物随着培养进行逐渐升高,在第 9 天其产量达到峰值为 $0.04\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 占生物量的 21.03 wt.%。SCG10 组的碳水化合物绝对含量逐渐增加,相对含量先升后降。SCG10 组的总碳水化合物产量在第 9 天达到最高为 $0.56\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 是同时期 BG11 组的 14 倍。SCG10 组的碳水化合物相对含量在第 7 天达到峰值, 占生物量的 51.51 wt.%, 但在第 9 天下降至 40.62 wt.%。SCG10 组的碳水化合物相对含量在第 5、7 和 9 天分别是 BG11 组的 4.95、3.08 和 1.93 倍。SCG10 组的脂质和蛋白质的绝对含量高于 BG11 组,但是相对含量低于 BG11 组。当培养进行到第 9 天时, SCG10 组斜生栅藻的蛋白质含量和脂质的产量分别为 0.20 、 $0.13\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 而 BG11 组中斜生栅藻的蛋白质和脂质产量分别为 0.05 、 $0.05\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。SCG10 组中碳水化合物相对含量在后期呈现下降趋势, 脂质和蛋白质含量增加。此时, 斜生栅藻胞内的生物大分子发生转换, 胞内的碳水化合物转化为脂质和蛋白质, 脂质和蛋白质的产量最高分别为 0.20 、 $0.13\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 5c 和 5d)。不同微藻在各种培养条件下的代谢产物会产生较大差异, 碳水化合物含量为

13 wt.%~57 wt.%、蛋白质含量为 12 wt.%~66 wt.%、脂质含量为 6 wt.%~71 wt.%^[36]。本实验表明咖啡渣水解液促进斜生栅藻积累碳水化合物,抑制蛋白质和脂质的积累。过去的研究表明通过优化有机碳源、实施氮饥饿、调整培养模式以及采用生物反应器后,斜生栅藻碳水化合物相对含量得到显著增加^[35]。斜生栅藻不产有毒物质,胞内各种初级代谢物和高附加值活性产物非常适合用于生产绿色生物能源和优质营养物质^[37]。具有在食品工业中用作蛋白质替代品、功能性食品或者是食品添加剂的潜在可能性^[38]。微藻生物质已被证实是水产养殖和家禽饲养的优质营养物质,其高附加值活性产物对鱼虾家禽等的生长发育、增强免疫力、调节消化系统以及提高肉质品质具有良好效果^[39,40]。本实验利用咖啡渣水解液培养斜生栅藻,一方面实现废弃物的资源回收利用;另一方面将收获的斜生栅藻作为优质营养物质是一种新型环保且经济可行的方案。

2.6 BG11和SCG10中斜生栅藻的差异代谢物分析

为深入探究咖啡渣水解液对斜生栅藻胞内代谢物的影响,取 BG11 和 SCG10 中培养到第 9 天的斜生栅藻做非靶代谢组分析。结果表明两组斜生栅藻胞内代谢物产生了显著差异(图 6a 和 6b)。

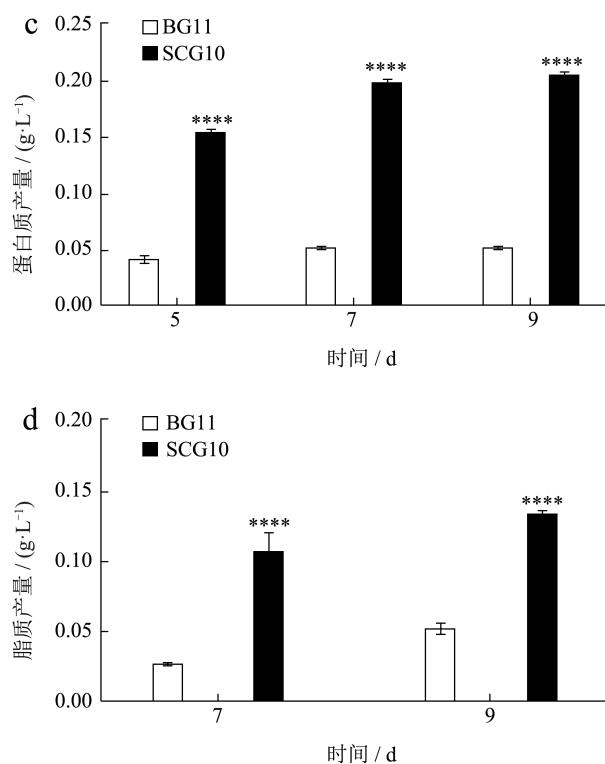
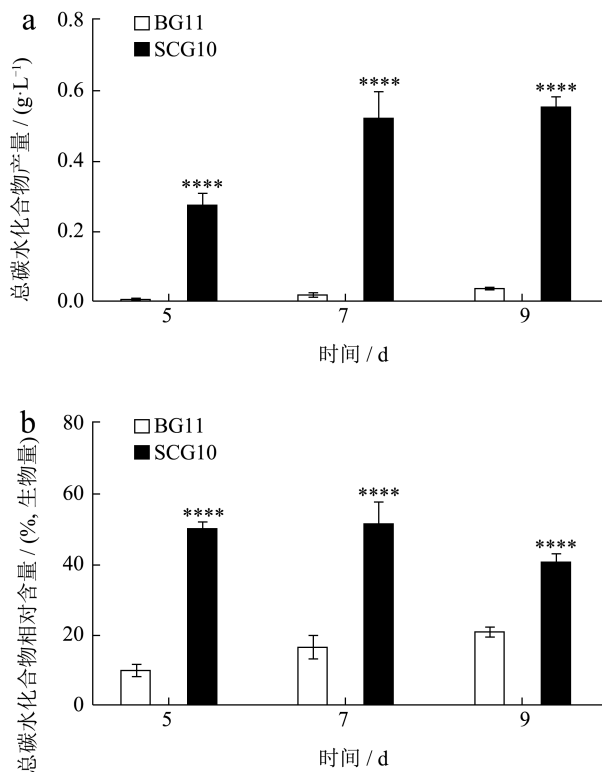


图 5 BG11 和 SCG10 组中斜生栅藻不同生长时期的初级代谢物分析

Fig.5 Primary metabolite analysis in *S. obliquus* at different growth stages in the group of BG11 and SCG10

在正离子模式和负离子模式下分别检测到 10 512 个和 8 601 个峰;所有样品均处于 95% 的置信区间内, R2X (cum) 分别为 0.709 和 0.722 (图 6a); PLS-DA 模型的 Q2 (cum) 值分别为 0.995 和 0.989; OPLS-DA 模型在正负模式下的 Q2(cum) 值分别为 0.992 和 0.983。通过高分辨率 MS/MS 实验对代谢物进行分析,结果表明与 BG11 相比, SCG10 培养的斜生栅藻有 152 个代谢物显著上调, 120 个代谢物显著下调(图 6c)。基于 KEGG 代谢途径,利用 MetPA 数据库分析与差异代谢物相关的代谢途径。结果显示咖啡渣水解液主要影响斜生栅藻胞内次生代谢物的生物合成、氨基酸的生物合成、植物激素的生物合成、ABC 转运体等代谢途径。

差异分析结果表明, BG11 和 SCG10 中斜生栅藻胞内植物激素和类固醇激素的含量存在显著差异。SCG10 培养的斜生栅藻的水杨酸和反式肉桂酸分别是 BG11 组的 18.72 倍和 2.38 倍, 而肉桂醛和茉莉酸分别降至 0.09、0.04 倍(图 6d)。水杨酸在斜生栅藻生长过程中,对抵抗和耐受非生物胁迫(如温度、盐度、金属、臭氧、紫外线辐射等)起着重要作用,影响斜

生栅藻的生长^[41]。反式肉桂酸是水杨酸的衍生物。水杨酸含量的提升表明咖啡渣水解液刺激斜生栅藻细胞的抗胁迫反应。当植物受到病原体攻击而激活防御系统时，水杨酸和茉莉酸是介导先天免疫对抗病原体的主要激素^[41]。茉莉酸主要调节植物的成熟和发育，调整和控制代谢物的产生，如植物抗毒素^[42]。水杨酸和茉莉酸之间存在相互拮抗作用，其中一种激素的信号传递受到另一种的抑制^[43]。这就解释了 SCG10 组的水杨酸含量增加，而茉莉酸降低（图 6d）。

SCG10 组的大部分类固醇激素含量均显著下降，如可的松、二氢皮质酮、四氢可的松、皮质酮、脱氧皮质酮、雄酮、脱氢表雄酮的含量显著降低，分别降至 BG11 组的 0.02、0.03、0.09、0.01、0.01、0.04、0.02 倍。只有醛固酮和孕二烯的含量分别增至 1.87 倍和 1.45 倍。有关微藻胞内类固醇激素的研究较少，Stirk 等^[44]的研究表明，在异养条件下葡萄糖会降低小球藻中油菜素甾醇的含量。

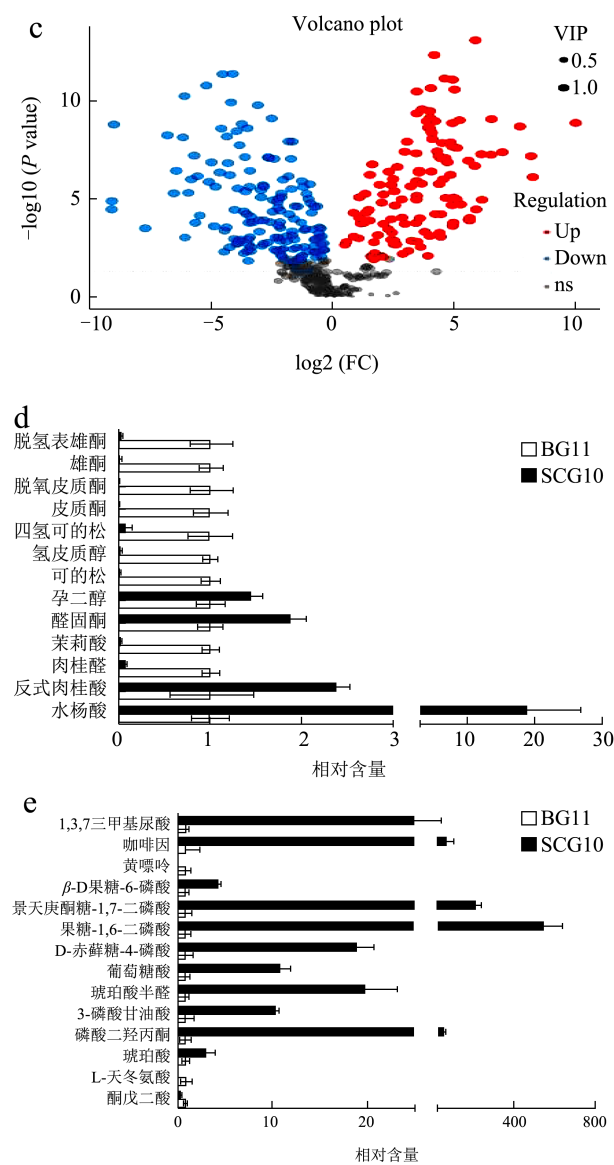
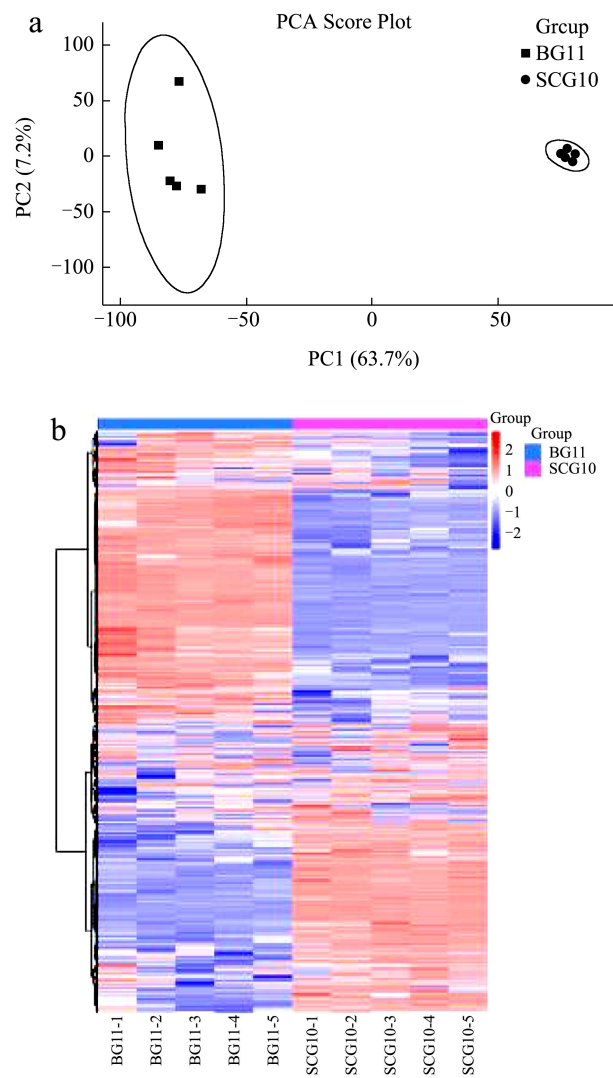


图 6 BG11 和 SCG10 中斜生栅藻在生长稳定期时的
差异代谢物分析

Fig.6 Differential metabolite analysis of *S. obliquus* cultured in BG11 and SCG10 medium at the growth plateau stage

注：（a）主成分分析（PCA）；（b）总代谢物的聚类分析；
（c）差异代谢物火山图；（d）植物激素和类固醇激素的差异代谢物；（e）碳代谢和咖啡因代谢的差异代谢物。

SCG10 中斜生栅藻碳水化合物的相对含量增加，对相关代谢途径分析。结果表明与 BG11 组相比，SCG10 组中斜生栅藻胞内 11 种与碳代谢相关的代谢物显著增加，2 种降低（图 6e）。天冬氨酸盐和 α -酮戊二酸的含量显著降低，这两种代谢物都是三羧酸循环（TCA）的中间代谢产物。11 种显著增加的代谢物大多与糖酵解通路相关，当微藻处于异养培养时，其糖酵解能力增强^[45]。Michiel 等^[46]的研究表明培养基中

氮缺乏会增强三羧酸循环, 因此推测是 SCG 中的氮源使斜生栅藻的 TCA 循环减弱, 从而降低胞内与 TCA 相关的代谢物含量。与 BG11 组相比, SCG10 组有 5 种与碳固定相关的代谢物含量增加, 1 种代谢物降低, 进一步阐释了斜生栅藻在含咖啡渣水解液中碳水化合物含量增加的原因。

此外, 研究发现 SCG10 培养的斜生栅藻胞内的咖啡因和 1,3,7- 三甲基尿酸含量分别是 BG11 组的 67.76 倍和 28.23 倍。而 1,3,7- 三甲基尿酸是咖啡因的代谢物, 这表明斜生栅藻能够吸收水环境中的咖啡因并将其降解为 1,3,7-三甲基尿酸^[47]。咖啡因被认定为水环境中的新型污染物, 2018 至 2021 年, 在西班牙的灌溉水、土壤和地下水中均检测到咖啡因, 其中灌溉水中质量浓度高于 $100 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 土壤中质量浓度为 $3.4 \sim 10.9 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 地下水中质量浓度高于 $10 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[48]。此外, 在海水、沿海水域和沉积物中也检测到了咖啡因^[49]。咖啡因可在微藻、珊瑚礁、双壳类动物和鱼类中产生生物富集现象, 而咖啡因已被证实对海洋生物的生长发育和新陈代谢活动产生不利影响^[49]。同时, 咖啡因作为一种神经系统兴奋剂, 过量咖啡因会抑制乙酰胆碱酶的活性, 导致人体神经中毒, 甚至诱发精神病和狂躁症。此外, 过量咖啡因还会引起人类心律失常而导致心脏毒性, 增加心肌梗塞和心脏骤停的风险^[50]。该研究结果表明, 斜生栅藻还可用于吸收和降解水环境中的咖啡因, 从而减少咖啡因对水生生物和人类生命安全的不良影响。

3 结论

本实验提取了咖啡渣脂质, 利用脱脂咖啡渣中的水解物培养斜生栅藻积累生物物质作为营养物质。在研究中, 咖啡渣油的得率占咖啡渣干重的比例高达 12.2 wt.%, 可作为一种新兴生物柴油的储备。斜生栅藻充分利用水解后的脱脂咖啡渣中单糖碳源积累生物物质, 其生物量、碳水化合物、蛋白质和脂质含量均显著高于 BG11 组。合成的碳水化合物、蛋白质和脂质作为优质营养物质, 可作为食品添加剂或人造食品原料等。此外, 斜生栅藻吸收和降解水环境中的新型污染物咖啡因, 降低其在水环境中对水生生物和人类生命健康的潜在威胁。本研究利用斜生栅藻在实验条件下实现了咖啡渣废弃物的资源转化, 为有机废弃物的资源化利用提供新思路, 后续研究将开展规模化实验以推进工程化应用。

参考文献

[1] LEE K T, SHIH Y T, RAJENDRAN S, et al. Spent coffee ground torrefaction for waste remediation and valorization [J]. Environmental Pollution, 2023, 324: 121330.

[2] SAXENA R, LADDHA H, BHOI R G. Sustainable management of spent coffee grounds: applications, decompositions techniques and structural analysis [J]. Journal of Material Cycles and Waste Management, 2025, 27(1): 19-33.

[3] JIN ONG P, LEOW Y, YUN DEBBIE SOO X, et al. Valorization of spent coffee grounds: A sustainable resource for bio-based phase change materials for thermal energy storage [J]. Waste Management, 2023, 157: 339-347.

[4] CAMPOS-VEGA R, LOARCA-PIÑA G, VERGARA-CASTAÑEDA H A, et al. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects [J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 45(1): 24-36.

[5] MOOIJ P R, DE JONGH L D, VAN LOOSDRECHT M C, et al. Influence of silicate on enrichment of highly productive microalgae from a mixed culture [J]. Journal of Applied Phycology, 2016, 28: 1453-1457.

[6] GHAFAR I, HUSSAIN A, HASAN A, et al. Microalgal-induced remediation of wastewaters loaded with organic and inorganic pollutants: An overview [J]. Chemosphere, 2023, 320: 137921.

[7] DEBNATH C, BANDYOPADHYAY T K, BHUNIA B, et al. Microalgae: Sustainable resource of carbohydrates in third-generation biofuel production [J]. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2021, 150: 111464.

[8] BARBOSA M J, JANSSEN M, SUDFELD C, et al. Hypes, hopes, and the way forward for microalgal biotechnology [J]. Trends in Biotechnology, 2023, 41(3): 452-471.

[9] IBRAHIM T, FEISAL N A S, KAMALUDIN N H, et al. Biological active metabolites from microalgae for healthcare and pharmaceutical industries: A comprehensive review [J]. Bioresource Technology, 2023, 372: 128661.

[10] NAGAPPAN S, DAS P, ABDULQUADIR M, et al. Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture [J]. Journal of Biotechnology, 2021, 341: 1-20.

[11] WU K, TIZZANI R, ZWEERS H, et al. Removal processes of individual and a mixture of organic micropollutants in the presence of *Scenedesmus obliquus* [J]. Science of the Total Environment, 2022, 838: 156526.

[12] DE MORAIS E G, MURILLO A M, LENS P N L, et al., Selenium recovery from wastewater by the green microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus* sp [J]. Science of the Total Environment, 2022, 851(Pt 2): 158337.

[13] GAO L, QIN Y, ZHOU X, et al. Microalgae as future food: Rich nutrients, safety, production costs and environmental effects [J]. Science of the Total Environment, 2024, 927: 172167.

[14] AL-HAMAMRE Z, FOERSTER S, HARTMANN F, et al. Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing [J]. Fuel, 2012, 96: 70-76.

[15] WANG X, LIU S F, LI R Y, et al. TAG pathway engineering via GPAT2 concurrently potentiates abiotic stress tolerance and oleaginicacy in *Phaeodactylum tricornutum* [J]. Biotechnology for Biofuels, 2020, 13: 1-14.

[16] LIU S F, YI Z C, HUANG Z Q, et al. Enhanced biodegradation of glyphosate by *Chlorella sorokiniana* engineered with exogenous purple acid phosphatase [J]. Water Research, 2025, 268: 122737.

[17] KAMIL M, RAMADAN K M, AWAD O I, et al. Environmental impacts of biodiesel production from waste spent coffee grounds and its implementation in a compression ignition engine [J]. Science of

- the Total Environment, 2019, 675: 13-30.
- [18] MALIK M A I, ZEESHAN S, KHUBAIB M, et al. A review of major trends, opportunities, and technical challenges in biodiesel production from waste sources [J]. Energy Conversion and Management: X, 2024, 23: 100675.
- [19] MUSSATTO S I, CARNEIRO L M, SILVA J P A, et al. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds [J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(2): 368-374.
- [20] ARORA N, TRIPATHI S, PRUTHI P A, et al. Assessing the robust growth and lipid-accumulating characteristics of *Scenedesmus* sp. for biodiesel production [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(22): 27449-27456.
- [21] SHASHIREKHA V, SIVAKUMAR M, SESHADRI S. Effective C-N-P ratio for growth and nutrient removal efficiency of *Scenedesmus obliquus* in sugar mill effluent [J]. Energy, Ecology and Environment, 2016, 1(5): 283-295.
- [22] PONDER A, KRAKÓWKO K, KRUK M, et al. Organic and conventional coffee beans, infusions, and grounds as a rich sources of phenolic compounds in coffees from different origins [J]. Molecules, 2025, 30(6): 1290.
- [23] ZOU L G, ZHENG D L, YAO Y T, et al. Polyphenols modulate microalgae metabolism with a particular increment in lipid accumulation [J]. Fuel, 2023, 352: 129085.
- [24] TAKEDA H. Cell wall sugars of some *Scenedesmus* species [J]. Phytochemistry, 1996, 42(3): 673-675.
- [25] GU J, PEI W, TANG S, et al. Procuring biologically active galactomannans from spent coffee ground (SCG) by autohydrolysis and enzymatic hydrolysis [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 149: 572-580.
- [26] HANELT D. Photosynthesis assessed by chlorophyll fluorescence [M]. Bioassays, 2018.
- [27] ZHANG Y, GAO K. Photosynthesis and calcification of the coccolithophore *Emiliania huxleyi* are more sensitive to changed levels of light and CO₂ under nutrient limitation [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2021, 217: 112145.
- [28] MASOJIDEK J, GOMEZ-SERRANO C, RANGLOVA K, et al. Photosynthesis monitoring in microalgae cultures grown on municipal wastewater as a nutrient source in large-scale outdoor bioreactors [J]. Biology (Basel), 2022, 11(10): 1380.
- [29] ABIDIZADEGAN M, BLOMSTER J, FEWER D, et al. Promising biomolecules with high antioxidant capacity derived from cryptophyte algae grown under different light conditions [J]. Biology (Basel), 2022, 11(8): 1112.
- [30] SHARMA L, KUDŁAK B, STON-EGIER T J, et al. Effects of emerging pollutant mixtures: Assessing the impact of caffeine and ionic liquid on cyanobacteria and diatom species [J]. Journal of Hazardous Materials, 2025, 491: 138011.
- [31] STIRBET A, LAZAR D, GUO Y, et al. Photosynthesis: basics, history and modelling [J]. Annals of Botany, 2020, 126(4): 511-537.
- [32] DIETZ K-J, HEBER U. Rate-limiting factors in leaf photosynthesis. I. Carbon fluxes in the Calvin cycle [J]. Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 1984, 767(3): 432-443.
- [33] FORTI G, FURIA A, BOMBELLI P, et al. *In vivo* changes of the oxidation-reduction state of NADP and of the ATP/ADP cellular ratio linked to the photosynthetic activity in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant Physiology, 2003, 132(3): 1464-1474.
- [34] GRAY I, GREEN-GAVRIELIDIS L A, THORNBUR C. Effect of caffeine on the growth and photosynthetic efficiency of marine macroalgae [J]. Botanica Marina, 2021, 64(1): 13-18.
- [35] SINGH H, VARANASI J L, BANERJEE S, et al. Production of carbohydrate enrich microalgal biomass as a bioenergy feedstock [J]. Energy, 2019, 188(1): 116039.
- [36] MADEIRA M S, CARDOSO C, LOPES P A, et al. Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review [J]. Livestock Science, 2017, 205: 111-121.
- [37] VIEGAS C, GOUVEIA L, GONÇALVES M. Aquaculture wastewater treatment through microalgal. Biomass potential applications on animal feed, agriculture, and energy [J]. Journal of Environmental Management, 2021, 286: 112187.
- [38] 张林彤,杨雅丹,艾依涵,等.微藻蛋白质的提取纯化及其在食品应用中的现状与挑战[J].食品工业科技,2025,46(17):447-456.
- [39] 孔祥青,类成通,王文哲,等.微藻产品在水产饲料中的应用研究进展[J].中国饲料,2024,15:97-103,130.
- [40] 刘建辉,李胜利,金鹿,等.微藻在畜禽饲料中应用研究进展[J].江苏农业学报,2023,39(9):1961-1968.
- [41] MARURI-LÓPEZ I, AVILES-BALTAZAR N Y, BUCHALA A, et al. Intra and extracellular journey of the phytohormone salicylic acid [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 115205849.
- [42] GHORBEL M, BRINI F, SHARMA A, et al. Role of jasmonic acid in plants: the molecular point of view [J]. Plant Cell Reports, 2021, 40(8): 1471-1494.
- [43] KANYUKA K, HAMMOND-KOSACK K, HOU S, et al. Salicylic acid and jasmonic acid crosstalk in plant immunity [J]. Essays in Biochemistry, 2022, 66(5): 647-656.
- [44] STIRK W A, BÁLINT P, TARKOWSKÁ D, et al. Effect of light on growth and endogenous hormones in *Chlorella minutissima* (Trebouxiophyceae) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 79: 66-76.
- [45] WU C, XIONG W, DAI J, et al. Genome-based metabolic mapping and ¹³C flux analysis reveal systematic properties of an oleaginous microalga *Chlorella protothecoides* [J]. Plant Physiology, 2015, 167(2): 586-599.
- [46] MATTHIJS M, FABRIS M, OBATA T, et al. The transcription factor bZIP14 regulates the TCA cycle in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* [J]. The EMBO Journal, 2017, 36(11): 1559-1576.
- [47] LIU D, XIE F, ZENG N, et al. Urine caffeine metabolites are positively associated with cognitive performance in older adults: An analysis of US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2011 to 2014 [J]. Nutrition Research, 2023, 109: 12-25.
- [48] HUIDOBRO-LÓPEZ B, MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ V, BARBERO L, et al. Evaluation of contaminants of emerging concern attenuation through a vegetation filter managed using different operating conditions [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 459: 132217.
- [49] VIEIRA L R, SOARES A M V M, FREITAS R. Caffeine as a contaminant of concern: A review on concentrations and impacts in marine coastal systems [J]. Chemosphere, 2022, 286(2): 131675.
- [50] BEAUCHAMP G, AMADUCCI A, COOK M. Caffeine toxicity: a brief review and update [J]. Clinical Pediatric Emergency Medicine, 2017, 18(3): 197-202.