

• 前沿基础研究 •

**张以恒** 中国科学院天津工业生物技术研究所研究员、博士生导师、低碳合成工程生物学重点实验室始创主任。2002 年获美国达特茅斯学院化学工程博士学位。2005 年任美国弗吉尼亚理工大学助理教授、副教授和教授，2021 年全职回国工作。作为国际体外合成生物学的开拓者和领跑者，提出了多酶分子机器这一颠覆性技术，化繁为简将不同生物体中生物大分子拼接和构建体外代谢途径，超越生物极限，实现重要生物化学合成，该技术目前正在成为微生物发酵和酶催化之外的第 3 个生物制造技术平台。



## 电-氢-糖循环的新能源体系研究进展

宋云洪<sup>1#</sup>, 吴冉冉<sup>1#</sup>, 魏欣蕾<sup>1</sup>, 石婷<sup>1</sup>, 李运杰<sup>1</sup>, 游淳<sup>1,2</sup>, 张玲玲<sup>1,2</sup>, 朱之光<sup>1,2</sup>, 张以恒<sup>1,2</sup>

1 中国科学院天津工业生物技术研究所, 天津 300308

2 国家合成生物技术创新中心, 天津 300308

宋云洪, 吴冉冉, 魏欣蕾, 石婷, 李运杰, 游淳, 张玲玲, 朱之光, 张以恒. 电-氢-糖循环的新能源体系研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(11): 4081-4100.

SONG YH, WU RR, WEI XL, SHI T, LI YJ, YOU C, ZHANG LL, ZHU ZG, ZHANG YH. Advances in a new energy system based on electricity-hydrogen-carbohydrate cycle. Chin J Biotech, 2022, 38(11): 4081-4100.

**摘要:** 发展绿色低碳的可再生能源体系已经成为重要的国际共识和方向, 也是我国践行“双碳”目标、保障能源安全、走社会可持续发展的必要路径。本文聚焦电-氢-糖 (electricity-hydrogen-carbohydrate, EHC) 循环的新能源理论体系, 重点综述了中国科学院天津工业生物技术研究所 10 余年来在基于体外多酶催化系统 (*in vitro* synthetic enzymatic biosystem, ivSEB) 的糖与水反应制氢、糖完全氧化产电, 以及氢或电能固定 CO<sub>2</sub> 到糖的生物转化方面所做的工作, 阐述体外多酶催化系统的设计原则、分子基础, 并从电-氢-糖循环进一步延伸出以糖 (淀粉) 为核心的体外合成生物制造, 结合最新相关研究进展, 分析讨论体外多酶催化体系的特色和优缺点, 并展望未来发展方向, 促进经济和社会的绿色低碳可持续发展。

**关键词:** 电-氢-糖循环; 新能源体系; 体外多酶催化系统; 糖水制氢; 生物制氢; 糖产电; 酶燃料电池; 人工电子传递链; CO<sub>2</sub> 产淀粉

**Received:** July 27, 2022; **Accepted:** October 5, 2022; **Published online:** October 11, 2022

**Supported by:** National Key Research and Development Program of China (2021YFA0910400); National Natural Science Foundation of China (32001027, 32101220); Tianjin Synthetic Biotechnology Innovation Capacity Improvement Project, China (TSBICIP-CXRC-067)

**Corresponding author:** ZHANG Yiheng. E-mail: zhang\_xw@tib.cas.cn

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this study

**基金项目:** 国家重点研发计划 (2021YFA0910400); 国家自然科学基金 (32001027, 32101220); 天津合成生物技术创新能力提升专项 (TSBICIP-CXRC-067)

# Advances in a new energy system based on electricity-hydrogen-carbohydrate cycle

SONG Yunhong<sup>1#</sup>, WU Ranran<sup>1#</sup>, WEI Xinlei<sup>1</sup>, SHI Ting<sup>1</sup>, LI Yunjie<sup>1</sup>, YOU Chun<sup>1,2</sup>, ZHANG Lingling<sup>1,2</sup>, ZHU Zhiguang<sup>1,2</sup>, ZHANG Yiheng<sup>1,2</sup>

1 Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

2 National Innovation Center for Synthetic Biotechnology, Tianjin 300308, China

**Abstract:** The development of green and low-carbon renewable energy systems has become an important international consensus. It is also an essential path for China to implement the dual-carbon strategy, ensure national energy security, and achieve sustainable development. This review introduces the theory of a new energy system based on electricity-hydrogen-carbohydrate (EHC) cycle, and highlights the biotransformations of carbohydrate/water-to-hydrogen, carbohydrate-to-electricity, and CO<sub>2</sub>-to-carbohydrate powered by hydrogen- or electric-energy based on the *in vitro* synthetic enzymatic biosystems (ivSEB) developed by Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences in the past decade. We elaborate the design principle and the molecular basis of ivSEB, and further expand from the EHC cycle to *in vitro* biomanufacturing with starch as the feedstock. Combined with the latest research advances, we analyze and discuss advantages and disadvantages of ivSEB, prospect future directions, so as to promote the green, low-carbon and sustainable development of economy and society.

**Keywords:** electricity-hydrogen-carbohydrate cycle; new energy system; *in vitro* synthetic enzymatic biosystem; carbohydrate/water-to-hydrogen; biological hydrogen production; carbohydrate-to-electricity; enzymatic fuel cell; artificial electron transfer chain; CO<sub>2</sub>-to-starch

发展绿色低碳的可再生能源体系已经成为重要的国际共识和方向，也是我国践行“双碳”目标、保障能源安全、走可持续发展的必要路径<sup>[1]</sup>。电能是最好的二次能源之一，其生产方式多样、应用广泛，已成为低碳社会不可或缺的能源形式。构建以电能为中心的新能源系统的关键挑战之一是如何高效存储电能，将电能高效转化为优质化学能进行长期储存，从而解决绿电生产与电能利用的衔接和匹配问题。氢经济是以氢为能源媒介（储存、运输和转化）的一种未来的经济结构设想，于 20 世纪 70 年代提出的。氢经济是一个解决电能储存和应用

（尤其车载动力源）的关键技术方案，但是氢经济面临着 4 个挑战：（小型分布式）绿氢生产、高密度氢储存、缺乏氢经济的基础设施、燃料电池价高和寿命短。解决电储存和氢经济的“产储运”的难题驱动了能量高效转化与储能技术的创新与不断突破<sup>[2]</sup>。

针对该关键问题，笔者团队于 2012 年提出了基于电-氢-糖 (electricity-hydrogen-carbohydrate, EHC) (二次能源) 循环的新能源体系 (图 1)<sup>[3]</sup>：糖（碳水化合物，尤其是淀粉）所蕴含的化学能可从自然光合作用或者人造光合作用而来，再通过全新生物路线高效转化为氢能或电能；

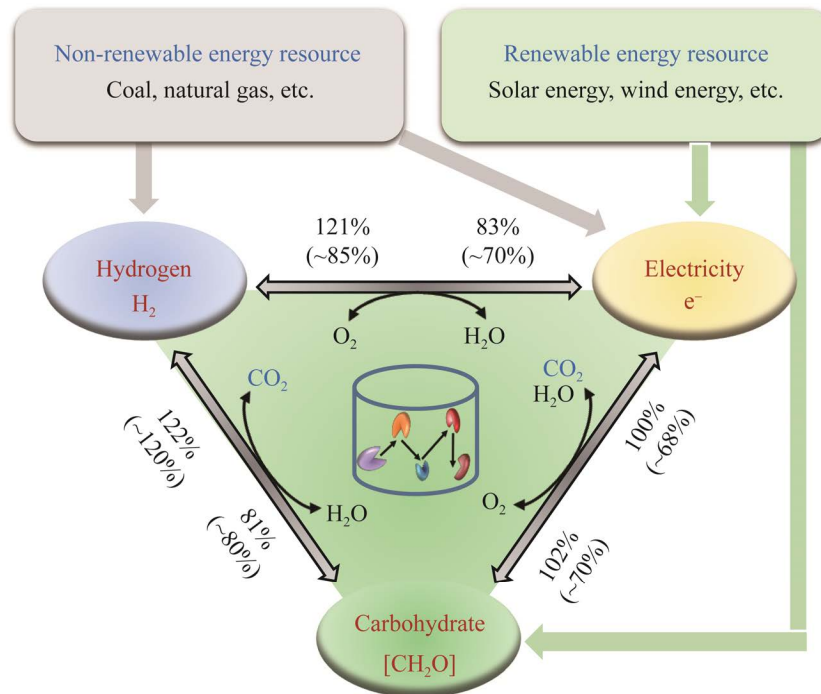


图 1 电-氢-糖循环示意图<sup>[3]</sup> 三种能源形式可由不可再生能源或可再生能源转化而来，相互转化的理论能量效率（括号里为实际获得能量效率）

Figure 1 Schematic diagram of electricity-hydrogen-carbohydrate cycle<sup>[3]</sup>. Three forms of secondary energy can be converted from non-renewable energy sources or renewable energy sources. For theoretical energy efficiency of bidirectional conversion (practically achieved energy efficiency shown in brackets).

氢能或电能可从多种一次能源转化而来，再通过生物路线高效转化为糖中的化学能（即人造光合作用）；氢能和电能之间则通过现有的氢燃料电池技术（氢到电）或电解水技术（电到氢）实现相互转化。糖是自然界生物体选择的储能有机物，在很多生物体内，通过酶促反应被逐级分解以提供生命活动所需的能量基础。本团队提出糖（淀粉为主）作为氢能载体和储电介质，超越自然获取生物能的方式，具有如下优点<sup>[4-5]</sup>：糖具有较高的能量密度（17 MJ/kg），比锂离子等金属电池高出 10 倍之多，是压缩氢气的 2-3 倍；糖可从自然界的植物、秸秆、废弃物等获得，例如我国每年生产近 10 亿 t 可利用生物质资源<sup>[6]</sup>，相当于 6 亿 t 糖；现有基础设施可以实现大规模和低成本糖的储存和运输；

生物转化时反应条件温和，相对安全、小型生物制造设备投资小。更重要的是，根据理论计算，电-氢-糖循环具有很高的能量转化效率（理论和实际），甚至可突破 100% 的化学能转化极限（例如，糖水到氢过程中能够实现利用低温热能转化为氢能<sup>[7]</sup>）。此外，糖与氢、糖与电的相互转化，会伴随二氧化碳的释放与利用，因此也是绿色低碳能源路线的重要组成。

在电-氢-糖循环的 6 条转化路线中，氢与电的相互转化主要利用化学催化剂通过氢燃料电池和电解水实现，均是较为成熟的技术。针对其余 4 条路线，笔者团队提出了基于生物催化剂的体外多酶催化系统（*in vitro* synthetic enzymatic biosystem, ivSEB）来实现<sup>[8-9]</sup>。体外多酶催化系统是在体外通过模拟自然或创建全

新的多酶催化途径, 实现底物到产品的生物转化系统。由于该系统不涉及细胞的生长, 没有细胞膜阻隔, 也没有复杂的代谢调控网络, 因此具有高原子经济性或能量转化效率、高反应速率、良好的传质、宽泛的反应条件 (如环境耐受性高), 以及更容易过程调控和强化等优点。体外多酶催化系统是合成生物学的一个重要方向, 不同于基于细胞提取物的无细胞系统: 前者可通过精准设计与改造强化酶元件, 显著提高酶元件性能, 降低酶制造成本, 可用于生产高值精细化学品、低值大宗化学品和新能源产品<sup>[10-11]</sup>。近年来, 随着酶工程的快速发展, 体外多酶催化系统迅速发展, 实现了由葡萄糖、淀粉、木质纤维素等底物到维生素、健康糖、有机酸、高值糖磷酸化合物、生物材料、液体生物燃料、氢气、电能等产品的转化, 逐渐成为一个颠覆性的新生物制造平台<sup>[12-18]</sup>。在糖与氢、电的相互转化方面, 笔者团队已设计构建了多条体外多酶催化系统, 获得了国际领先的能量转化效率<sup>[14,19-23]</sup>, 是合成生物学在新能源领域的典范。

本综述聚焦电-氢-糖循环的新能源体系, 重点介绍了基于体外多酶催化系统的糖到氢、糖到电, 以及氢或电到糖的转化, 阐述体外多

酶催化系统的设计原则和分子基础, 讨论其特色和优缺点 (表 1), 电-氢-糖循环还可以延伸出以糖为核心的体外合成生物制造, 具有广阔的应用前景。希望本综述为构建绿色低碳的新能源路线提供科学参考, 对体外合成生物技术的发展也具有重要指导意义。

## 1 糖 (水) 到氢的转化

自然界中氢元素储量非常丰富, 多以化合物形式存在于水、碳氢化合物、碳水化合物中, 可通过化学、电化学或生物过程转化成氢能 (图 2)。电化学裂解水制氢技术是氢氧燃料电池的逆反应, 电能可来源于太阳能、风能等可再生能源, 也可来源于工业废电, 但是生产成本高, 受到产电的成本限制。以碳氢化合物 (煤、石油及天然气) 为原料制氢多采用高温高压条件, 投资大、不能小型分布式生产, 需要整合碳捕获和封存技术处理二氧化碳副产物, 将逐步被其他方法取代。生物质 (主要是碳水化合物, 简称“糖”) 制氢也是近些年被普遍关注的研究方向, 这主要是因为生物质资源丰富, 每年产量是消耗量的 6 倍<sup>[6]</sup>, 而且来源和燃烧产物均为二氧化碳和水, 碳净排放为零, 符合绿色发展需求。

表 1 体外多酶催化系统的优点、当前挑战和应用

Table 1 Advantages, current challenges, and applications of *in vitro* synthetic enzymatic biosystems

Metric	Advantage (+)/ challenge (-)	Description of advantage/ solution to challenge	Example	References
Pathway design	(+) flexible pathway design	Able to design unnatural synthetic pathways	An artificial <i>in vitro</i> pathway uses nine enzymes to stereoselectively produce islatravir from simple building blocks. It requires fewer than half the number of steps of previously reported routes	[24]
Enzyme	(+) a wide choice of enzyme sources	Can simultaneously use enzymes from different sources, even when they are difficult to co-express	Different enzymes from bacteria, fungi, and plants have been used in one pot to investigate the ability of the system to produce starch from methanol	[25]

(待续)

(续表 1)

Metric	Advantage (+)/ challenge (-)	Description of advantage/ solution to challenge	Example	References
	(-) costly enzymes; (-) enzyme deactivation	To use enzymes with high total turn-over number (TTN) <sup>[26]</sup> values To improve the recombinant protein expression levels Utilization of thermostable enzymes Protein engineering to enhance thermostability Enzyme immobilization to enhance thermostability Bulk enzyme production	Fructose-1,6-bisphosphatase from <i>Thermotoga maritima</i> has an estimated TTN of 20 500 000 (mol product/mol enzyme) at 60 °C Expression level of soluble recombinant <i>T. maritima</i> 6-phosphogluconate dehydrogenase in <i>Escherichia coli</i> has been increased by more than 500 folds upon optimization of expression conditions By using hyperthermophilic enzymes, one-step enzyme purification by heat treatment is allowed, and <i>in vitro</i> production of <i>myo</i> -inositol from starch can be operated at 70 °C A more than 14 °C increase in melting temperature ( $T_m$ ) of <i>Bacillus subtilis</i> <i>p</i> -nitrobenzyl esterase has been achieved through directed evolution without compromising its activity at lower temperatures Immobilized glucose isomerase can work at around 55 °C for up to two years Recombinant protein expression by the <i>Bacillus</i> T7 system in high-density fermentation, decreasing its production costs to \$30–40/kg enzyme	[27] [28] [12] [29] [30] [31]
	Coenzyme (-) costly and unstable coenzymes	Coenzyme regeneration Design and utilization of biomimetic coenzymes	A CO <sub>2</sub> -fixing system containing NAD(P)H, ATP and FAD regeneration modules has been designed A hyperthermostable glucose dehydrogenase has been engineered to give enhanced activity towards a synthetic nicotinamide biomimetic coenzyme. This engineered enzyme has been used in combination with an enoate reductase for the complete conversion of 2-methylbut-2-enal	[32] [33]
Reaction control	(+) easy-to-adjust reaction conditions  (-) different optimal conditions for different enzymes	Temperature, pH, substrate and enzyme concentrations can all be adjusted with high flexibility Multi-stage reactions	<i>In vitro</i> production of fructose 1,6-diphosphate has been tested under different temperatures, pH values and enzyme ratios for optimal system performance For two-stage production of <i>myo</i> -inositol from cellodextrin, the temperature increases at stage 2 to speed up downstream reactions	[34] [35]
Product yield	(+) high or even near theoretical product yield; (+) high product titer	Because there is no cell growth or metabolism Due to higher system tolerability to toxins	<i>In vitro</i> synthetic enzymatic biosystem breaks the Thauer limit of microbial fermentation (i.e. 4 H <sub>2</sub> /glucose) by theoretically producing 12 H <sub>2</sub> /glucose The <i>in vitro</i> system can produce around 0.5 g/L cannabigerolic acid or cannabigerovarinic acid which is almost two orders of magnitude higher than microbial production by yeast	[36] [17]
Product separation	(+) easy product separation	Due to lack of cell walls	Polyhydroxybutyrate produced <i>in vitro</i> precipitates and hence can be easily collected without cell lysis	[37]
Scale-up	(+) easy for scale-up	Similar system behavior after scale-up	<i>In vitro</i> synthesis of <i>myo</i> -inositol has been successfully manufactured in 60 000 L reactors	[12]

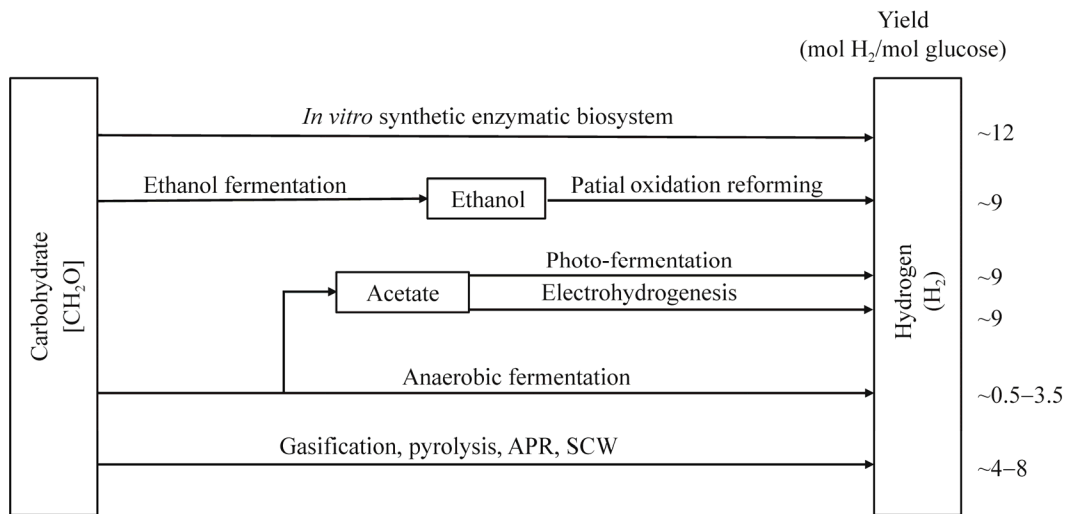


图 2 比较利用不同方法将糖转化为氢气的产量<sup>[38]</sup>

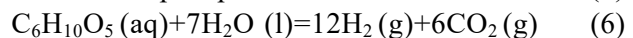
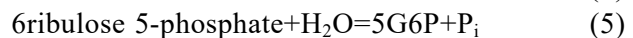
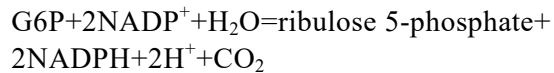
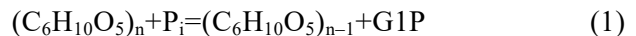
Figure 2 The comparison of hydrogen yields produced from biomass carbohydrates by using different approaches<sup>[38]</sup>.

生物催化碳水化合物制氢主要分为微生物发酵法和体外多酶催化法。在微生物发酵方面，尽管代谢工程和合成生物学进行了大量的研究，但至今没有一种天然或工程微生物能产生超过 4 mol 氢气/mol 葡萄糖的限制，即 Thauer 极限<sup>[39-41]</sup>。相比之下，体外多酶催化法采用多种酶将糖和水催化分解生成还原力 NADPH 或 NADH，再通过氢化酶将还原力转化成氢气，理论产量为 12 mol 氢气/mol 葡萄糖，远高于微生物 4 mol 氢气/mol 葡萄糖的限制。由于反应物糖和水为液态，产物氢气和二氧化碳为气态，使得该反应成为目前首个能利用低温热能生产氢能的化学反应<sup>[19,38,42]</sup>。

### 1.1 糖产氢的高得率获得

自 2007 年以来，笔者团队针对自然生物体利用糖产氢能低和速率慢的科学问题，设计并验证了全新的体外多酶催化糖产氢途径，如图 3 所示，该途径包含 3 个功能模块，分别是：(1) 底物能量激活模块，产生葡萄糖 6-磷酸 (G6P)；(2) 电子生成模块，将 G6P 的电子

和质子以 NADPH 的形式转移，进而被氢化酶转化产生氢气；(3) 碳重排模块，将核酮糖 5-磷酸生成 G6P。



概念验证实验是以淀粉和水为底物生产氢气<sup>[42]</sup>，途径包含：(1) 通过  $\alpha$ -葡聚糖磷酸化酶催化淀粉和磷酸盐生成葡萄糖 1-磷酸 (G1P) (公式 (1))；(2) 通过磷酸葡萄糖变位酶转化为 G6P (公式 (2))；(3) 通过 2 个脱氢酶将 G6P 生成 2 个 NADPH (公式 (3))；(4) 由氢化酶催化 NADPH 生成氢气 (公式 (4))；(5) 由碳重排模块将核酮糖 5-磷酸生成 G6P (公式 (5))。整个化学计量反应可以写成式 (6)，该反应体系既不需要昂贵的 G6P，也不需要 ATP，是第一个通过吸收低温废热产生氢能的化学反应。此外，通过该途径产生的氢很容易分离和收集，因为在



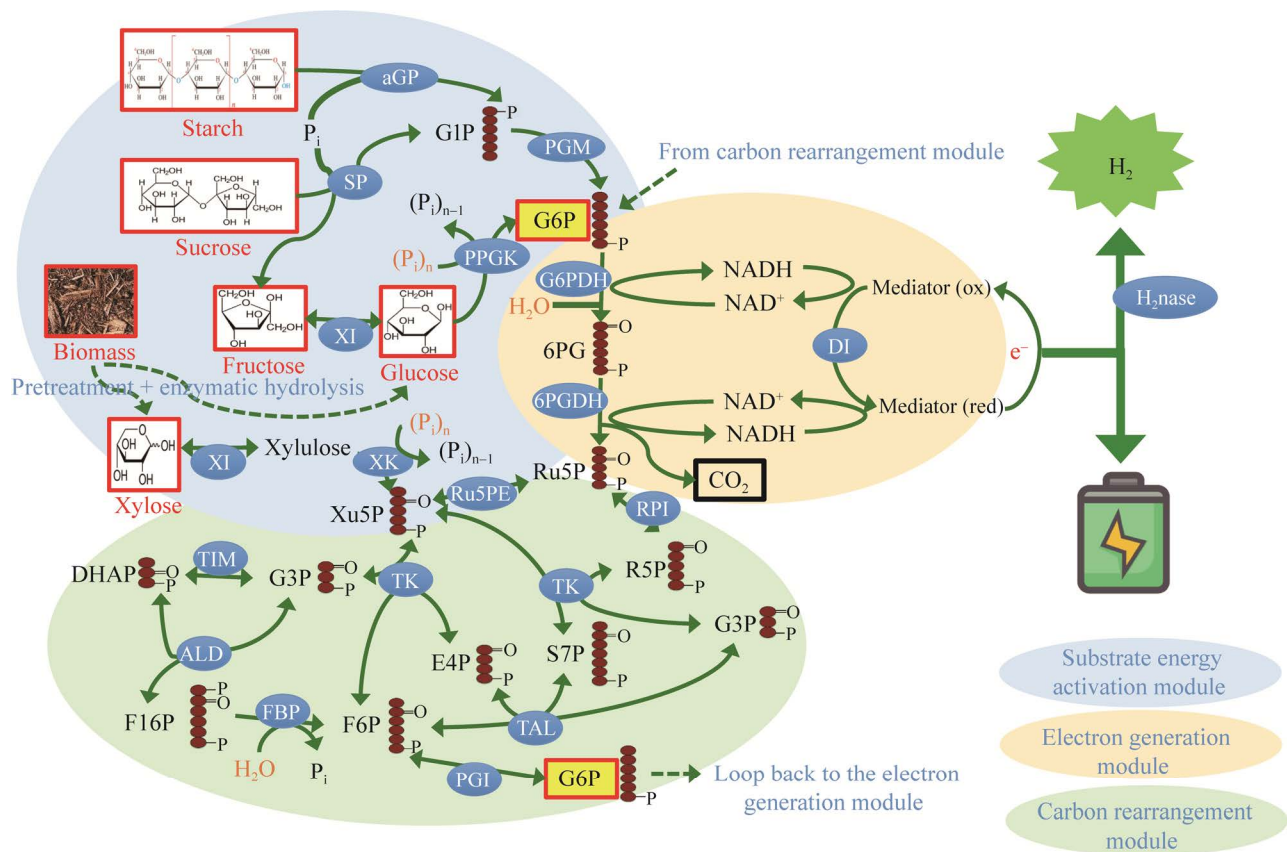


图 3 体外多酶催化途径产氢或电示意图

Figure 3 Schematic diagram of hydrogen or electricity production by *in vitro* synthetic enzymatic biosystem. The enzymes are  $\alpha$ GP:  $\alpha$ -glucan phosphorylase; SP: sucrose phosphorylase; XI: xylose isomerase; PPGK: polyphosphate glucokinase; PGM: phosphoglucomutase; G6PDH: glucose 6-phosphate dehydrogenase; 6PGDH: 6-phosphogluconate dehydrogenase; DI: diaphorase;  $H_2$ nase: hydrogenase; XK: xylulokinase; Ru5PE: ribulose 5-phosphate epimerase; RPI: ribose 5-phosphate isomerase; TK: transketolase; TAL: transaldolase; TIM: triose phosphate isomerase; ALD: fructose-bisphosphate aldolase; FBP: fructose 1,6-bisphosphatase; PGI: phosphoglucose isomerase. Metabolites are G1P: glucose 1-phosphate;  $P_i$ : inorganic phosphate; G6P: glucose 6-phosphate; 6PG: 6-phosphogluconate; Ru5P: ribulose 5-phosphate; R5P: ribose 5-phosphate; Xu5P: xylulose 5-phosphate; G3P: glyceraldehyde 3-phosphate; S7P: sedoheptulose 7-phosphate; E4P: erythrose 4-phosphate; F6P: fructose 6-phosphate; DHAP: dihydroxyacetone phosphate; FBP: fructose 1,6-bisphosphate.

低于水沸点的温度下，含水反应物生成气态产物。这表明利用多糖低成本的绿色制氢具有很大的潜力。具体来说，概念实验利用来源于细菌、酵母、动物、植物和古菌的 13 个酶，以淀粉和水为底物，生产氢气，产氢得率为 5.19 mol 氢气/mol 葡萄糖<sup>[42]</sup>。

进一步，本团队已证实以不同糖类为底

物，利用体外多酶催化途径高效产氢是完全可行的，如图 3 所示，已实验验证的糖类底物包括淀粉<sup>[13,23,42]</sup>、纤维素<sup>[19]</sup>、木糖<sup>[20]</sup>、蔗糖<sup>[21]</sup>、生物质单糖<sup>[22]</sup>和低聚木糖的混合物<sup>[43]</sup>，为糖产氢研究奠定了坚实的基础。以纤维素材料（如纤维二糖、纤维五糖）和水为底物，产氢得率分别达到了理论得率的 93%（纤维二糖）

和 68% (纤维五糖), 最大产氢速率也达到了  $3.92 \text{ mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})^{[19]}$ 。然而, 在多糖或寡糖产氢的途径中, 有一个葡萄糖单位不能转化为 G-1-P, 为了完全利用所有己糖单位, 途径中加入了利用低成本的聚磷酸盐生产 G-6-P 的反应<sup>[44]</sup>, 最终实现蔗糖<sup>[21]</sup>和葡萄糖<sup>[22]</sup>的所有己糖单位均可用于产氢, 产氢得率接近理论值 (即每 mol 葡萄糖可产生接近 12 mol 氢气)。另外, 为了利用木糖 (自然界最丰富的戊糖) 生产低成本氢气, 本团队发现了一种新的多磷酸盐木糖激酶, 通过使用这种酶和聚磷酸盐, 成功从 1 个木糖和水中产生了近 10 个氢气<sup>[20]</sup>。并且, 还展示了一种体外非天然的酶解途径, 利用生物质低聚木糖中储存的化学能来分解水, 以产生接近理论产量的氢气 (达到每 mol 木糖可产生 9.5 mol 氢气)<sup>[43]</sup>。进一步地, 利用 5 种嗜热酶, 包括异淀粉酶 (isoamylase, IA)、 $\alpha$ -葡聚糖磷酸化酶 ( $\alpha$ -glucan phosphorylase,  $\alpha$ GP)、4- $\alpha$ -葡聚糖转移酶 (4- $\alpha$ -glucanotransferase, 4GT)、多磷酸葡聚糖激酶 (polyphosphate glucokinase, PPGK) 和磷酸葡萄糖变位酶 (phosphoglucomutase, PGM), 设计了淀粉完全磷酸化为 G6P 的无需 ATP 体外多酶途径 (图 4A), 使淀粉产氢的得率达到理论值, 即每 mol 葡萄糖可产生接近 12 mol 氢气<sup>[23]</sup>。

## 1.2 糖产氢的速率提升

本团队在提升产氢速率的问题上也进行了深入地探索, 通过多种策略, 逐步提升产氢反应速率, 相对于最初的产氢速率, 将产氢速率提升了 1 000 倍, 达到  $530 \text{ mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})^{[13]}$ 。其中, 在体外多酶催化糖产氢体系中, 利用遗传算法将非线性动力学模型参数与实验数据拟合, 并通过全局灵敏度分析确定对反应速率和产率影响最大的酶, 然后, 使用该模型优化酶载量后, 氢气生产速率提高了 3 倍, 最

高达到  $32 \text{ mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。接着, 通过提高反应温度、底物和酶浓度, 生产速率进一步提高到  $54 \text{ mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})$ , 与使用该方法的初始研究相比增加了 67 倍<sup>[22]</sup>。

由于  $\text{H}^+/\text{H}_2$  氧化还原电对的中点电位 ( $E^0 = -414 \text{ mV}$ ) 比天然电子载体 NADPH ( $E^0 = -320 \text{ mV}$ ) 更负, 因此从热力学上讲, 从 NADPH 产氢气的反应是不利的。这个反应在生物体内和体外产氢气过程中都是一个已知的限速步骤。因此, 研究人员通过引入一种氧不敏感的电子介质苜基紫精 (benzyl viologen, BV) 和一种 NADPH 红素氧还蛋白氧化还原酶 (NADPH rubredoxin oxidoreductase, NROR) 来催化 NADPH 和 BV 之间的电子传递, 设计了从 NADPH 到氢气的人工电子传递链 (图 4B)。实验结果表明, 与仅由 SHI 氢化酶催化的氢气生成速率相比, 使用这种人工电子传递链的氢气生成速率增加了约 5 倍, 最高产氢速率达到  $310 \text{ mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})^{[45]}$ 。

此外, 为了使用更加便宜且更加稳定的辅酶  $\text{NAD}^+$  替代反应中的辅酶  $\text{NADP}^+$ , 研究人员首先通过 (半) 理性设计和定向进化的方法, 对反应中的脱氢酶 6PGDH 进行改造, 成功得到了从  $\text{NADP}^+$  到  $\text{NAD}^+$  的辅酶选择性逆转的脱氢酶<sup>[46-47]</sup>。随后, 又成功将脱氢酶 G6PDH 的偏好性由  $\text{NADP}^+$  改造成  $\text{NAD}^+$ <sup>[13]</sup>。为了进一步加快电子传递, 提升产氢速率, 研究人员将辅酶  $\text{NAD}^+$  分别与两个脱氢酶 mG6PDH 和 m6PGDH 进行偶联, 将 BV 和黄递酶 (diaphorase, DI) 进行偶联 (图 4C), 最终, 在一个由 15 种嗜热酶组成的体外多酶反应中, 通过以 NADH 为辅酶的戊糖磷酸途径以及人工电子传递链, 在  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  反应温度下, 产氢速率达到  $530 \text{ mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})^{[13,46]}$ 。另外, 实验表明, 应用这两种偶联  $\text{NAD}^+$  的脱氢酶以及超嗜热酶, 产氢体系可以维持 9 d 制



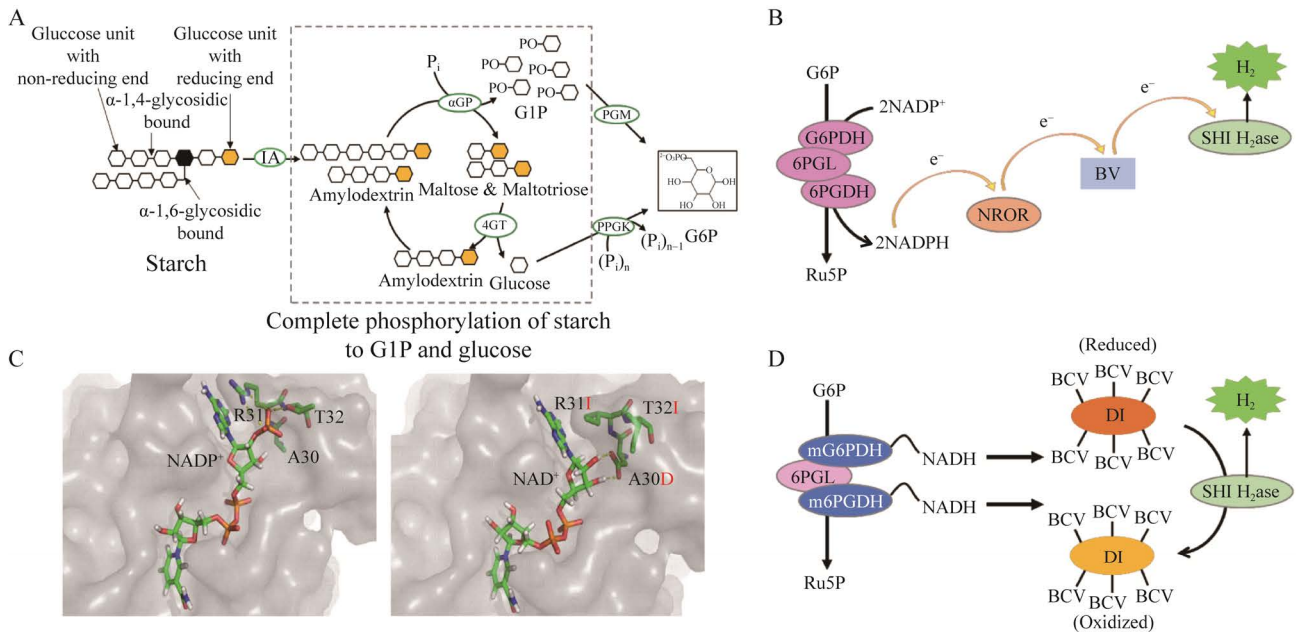


图 4 体外多酶催化糖产氢途径优化<sup>[13,23,45-46]</sup> A: 淀粉完全磷酸化为 G6P 的多酶催化途径<sup>[23]</sup>; B: 利用人工电子传递链提高产氢速率的示意图<sup>[45]</sup>; C: 脱氢酶 6PGDH 的辅助偏好性由 NADP<sup>+</sup>改造为 NAD<sup>+</sup><sup>[46]</sup>; D: 利用偶联 NADH 的脱氢酶 MG6PDH 和 M6PGDH 和偶联 BV 的黄递酶 DI (BCV-DI) 提高产氢速率的示意图<sup>[13]</sup>

Figure 4 Optimization of *in vitro* synthetic enzymatic biosystem for hydrogen production from carbohydrate<sup>[13,23,45-46]</sup>. (A) Enzymatic pathway depicting the complete phosphorylation of starch to G6P without the use of ATP<sup>[23]</sup>. (B) Schematic diagram of biomimetic electron transport chain for improving hydrogen production rate<sup>[45]</sup>. (C) Surface view of wild-type 6PGDH with NADP<sup>+</sup> and mutant A30D/R31I/T32I with NAD<sup>+</sup><sup>[46]</sup>. (D) Schematic diagram of the NAD<sup>+</sup>-based electron transport chain comprised of NAD<sup>+</sup>-conjugated mG6PDH, NAD<sup>+</sup>-conjugated m6PGDH, and BV-conjugated DI (BCV-DI) for improving hydrogen production rate. IA: isoamylase; 4GT: 4- $\alpha$ -glucanotransferase;  $\alpha$ GP:  $\alpha$ -glucan phosphorylase; PGM: phosphoglucomutase; G6PDH: glucose 6-phosphate dehydrogenase; 6PGL: 6-phosphogluconolactonase; 6PGDH: 6-phosphogluconate dehydrogenase; NROR: NADPH rubredoxin oxidoreductase; SHI H<sub>2</sub>ase: soluble hydrogenase I; G6P: glucose 6-phosphate; BV: benzyl viologen; Ru5P: ribulose 5-phosphate.

氢, NAD<sup>+</sup>总周转数超过 10 万。这种生物制氢系统具有最高的化学能效和极高的反应速率, 大部分解决了与成本效益、分布式制氢和基础设施相关的挑战<sup>[13]</sup>。

相比于微生物发酵体系, 体外多酶催化体系用于生物制造此前普遍被认为难以克服成本经济性和体系稳定性的问题, 特别是用于生物产氢。然而, 经过本团队十余年研究, 已通过

热稳定性酶的过量表达部分解决了酶的成本和鲁棒性问题; 验证了碳水化合物(淀粉、纤维二糖、纤维五糖、蔗糖、葡萄糖、果糖和木糖等)产氢的普适性; 并将产氢速率从最初的 0.5 mmol/(L·h) 提高至 530 mmol/(L·h), 实现了 1 000 倍的速率提升, 根据目前氢能源汽车需求预测, 在目前产氢速率的基础上再提高 10 倍即可用于车载动力示范。

## 2 糖到电的转化

糖类物质还可用来直接发电。最早在 20 世纪 60 年代, 美国 NASA 就提出以酶作催化剂、糖类为底物的生物燃料电池, 可以将航天员在太空中产生的有机废弃物转化为清洁电能。然而, 在随后的几十年里, 酶燃料电池 (enzymatic fuel cell, EFC) 的研究进展十分缓慢, 直到步入 21 世纪后才进入快速发展时期。目前, EFC 的发展仍面临 4 个重大挑战: 无法完全氧化燃料、功率密度低、运行稳定性差和电压输出受限。

### 2.1 糖底物的完全氧化产电

在构建 EFC 时, 将能量密度和功率密度最大化是至关重要的, 能够提高 EFC 的应用潜力。大部分燃料 (如葡萄糖、乳酸、丙酮酸或乙醇等) 的完全氧化都需要几种酶的协同催化才能完成, 然而, 目前大多数 EFC 仅使用一种酶来完成燃料的部分氧化, 导致电池效率和能量密度低。糖类燃料电池的主要优点之一是每重量或每体积所能储存的能量比大多数二次电池高得多, 但开发这种能量储存潜力需要一系列逐步氧化燃料的级联反应。大多数以葡萄糖为燃料的 EFC 是利用葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase, GOx) 或 NADH 依赖性的葡萄糖脱氢酶 (glucose dehydrogenase, GDH) 为催化剂, 每个葡萄糖分子只产生理论 24 个电子中的 2 个。为了实现更完全的葡萄糖氧化, Sakai 等和 Cosnier 等将吡喃糖脱氢酶 (pyran sugar dehydrogenase, PDH) 和纤维二糖脱氢酶 (cellobiose dehydrogenase, CDH) 结合起来, 使得一个葡萄糖分子氧化可获得 6 个电子<sup>[48-49]</sup>。受到活细胞中葡萄糖完全氧化代谢途径的启发, Minteer 等提出了一种在生物阳极上将葡萄糖氧化为二氧化碳的六酶系统。然而, 该系统由于中间反应也产生二氧化碳, 因此无法证

实葡萄糖的完全氧化<sup>[50]</sup>。

为了实现糖类底物的完全氧化产电, 本团队做了大量研究, 最终构建出了基于体外多酶催化途径的 EFC, 可将各种糖类物质完全氧化生成二氧化碳, 并产生接近理论得率的电子数 (图 3)。与产氢途径类似, 基于两种依赖于 NAD<sup>+</sup> 的脱氢酶, 即 G6PDH 和 6PGDH, 我们首先设计了 G6P 的两步氧化产电过程。在此过程中, G6P 被氧化生成二氧化碳和核酮糖 5-磷酸 (ribulose 5-phosphate, Ru5P), 同时 NAD<sup>+</sup> 被还原为 NADH。还原的 NADH 随后被 DI 再氧化, 每个 NADH 产生 2 个电子。这些电子通过如维生素 K3 (VK3) 等电子中介体进一步转移到阳极上, 即产生电能。因此, 1 个 G6P 分子可产生 4 个电子<sup>[51-52]</sup>。中间体 Ru5P 是一种 C5 化合物, 可以重新进入再生 C6 化合物 G6P 的途径并产生电子。麦芽糖糊精的葡萄糖单元产生的 G6P, 经过氧化和再生模块 6 次, 可实现完全氧化, 产生近 24 个电子, 接近理论值<sup>[14]</sup>。结果表明, 当麦芽糊精浓度为 15% (W/V) 时, EFC 的储能密度为 596 Ah/kg, 法拉第效率为 92.3%。纤维素也可通过纤维素糊精磷酸化酶 (cellulose dextrin phosphorylase, CDP) 和葡萄糖磷酸变位酶 (phosphoglucomutase, PGM) 的催化作用转化为 G6P, 利用上述产电途径氧化产电<sup>[53]</sup>。然而, 这一途径仅可利用如麦芽糊精、纤维素和淀粉等多糖, 不能直接应用于葡萄糖。此后, 将糖酵解和磷酸戊糖途径结合起来的体外多酶分子机器被证明能利用葡萄糖产生接近理论可用的电子产量<sup>[54]</sup>。该途径不涉及 ATP、辅酶 A 或膜蛋白。通过引入一种新酶即 6-磷酸葡萄糖内酯酶 (6-phosphogluconolactonase, 6PGL) 后, 反应速率提高了近 1 倍, 法拉第效率可达 98.8%, 最大电流密度为 6.8 mA/cm<sup>2</sup>。同样, 通过在糖转化模块中加入相应的酶, 设计了一个

体外 15 种酶的多酶分子机器,可以在 EFCs 中利用葡萄糖、蔗糖和果糖的混合物产电<sup>[55]</sup>。3 种糖底物分别经过几个糖磷酸化步骤得到 G6P,然后进入上述氧化产电和中间体再生模块。该 EFC 实现了约 95% 的法拉第效率,并产生了  $1.08 \text{ mW/cm}^2$  的最大功率密度。这项工作首次证明了在 EFCs 中可使用糖混合物作为燃料,并实现了接近理论可用的能量密度。麦芽糖是一种天然的  $\alpha$ -(1,4) 链双糖,在食品工业和微生物发酵中有着广泛的应用。在麦芽糖磷酸化酶、 $\beta$ -磷酸葡萄糖激酶和多磷酸葡萄糖激酶的催化作用下,每个麦芽糖分子转化为两个 G6P 分子,随后进入氧化产电模块,理论上可产生 48 个电子,由此构建的糖电池法拉第效率为 96.4%,最大功率密度为  $0.6 \text{ mW/cm}^2$ <sup>[56]</sup>。

除上述己糖燃料外,木糖作为植物生物量中第二大单糖和最丰富的戊糖,也是一种很有前景的糖燃料。一种体外重组的细菌戊糖磷酸途径首次被证实可在 EFC 中利用木糖产电,每个木糖分子可以在 5 次 G6P 再生循环中产生 20 个电子<sup>[57]</sup>。木糖的完全氧化为生物质中己糖和戊糖的共同利用铺平了道路,在此基础上,生物质水解物中的葡萄糖和木糖可被同步利用并完全氧化,从而实现 EFC 的高能量密度,法拉第效率为 92%<sup>[58]</sup>。通过优化酶量和温度,并利用活性炭去除生物质水解物中的酶抑制剂后,以生物质糖为燃料的 EFC 最大功率密度为  $0.5 \text{ mW/cm}^2$ ,10 d 后功率密度仍为初始值的 60%。

## 2.2 酶燃料电池的性能提升

电池的输出功率,直接决定了其应用前景。例如,现在使用的氢燃料电池功率在几十到几百千瓦,功率密度可达几千瓦/L。对于以糖为底物的酶燃料电池来说,目前世界上功率密度最高的为日本索尼公司开发的糖电池,可

达到  $10 \text{ mW/cm}^2$ 。本团队创制的糖底物完全氧化技术所构建的 EFC,功率密度可达  $2 \text{ mW/cm}^2$ 。为了进一步提高功率密度,需要整合更多的生物化学、电化学、化学工程、纳米材料等一系列领域的知识。最近,基于蛋白质工程的多酶复合体可应用于 EFCs 中,以提升电池的能量转化效率<sup>[59-62]</sup>。多酶复合体可使多种酶在空间上相互靠近,底物或中间物从一个酶的活性中心有效地转移到另一个酶的活性中心,不仅可缩短转运和反应时间,还能减少扩散引起的中间物损失。例如,通过使用交联的己糖激酶和 G6PDH 的双酶复合物氧化葡萄糖,可提高 EFC 的功率密度<sup>[63]</sup>。此外,以支架蛋白为结构核心,根据蛋白相互作用,将多种酶元件对接而成的多酶自组装体也可应用于 EFCs 中<sup>[64]</sup>。本团队利用天然纤维小体中的黏连蛋白 (cohesin) 和锚定蛋白 (dockerin) 之间的高亲和力和高特异性相互作用,构建了纤维糊精磷酸化酶和磷酸葡萄糖变位酶的双酶复合体,通过下游酶拉动上游酶从而克服热力学瓶颈,将电流密度和功率密度分别提高了 3.35 倍和 2.14 倍 (图 5A)<sup>[53]</sup>。

EFC 中的电子是由电极界面上发生的氧化还原反应所产生的。因此,酶的催化性能以及酶分子内部、酶与酶之间、酶与电极之间的电子传递是影响 EFC 功率的关键因素。G6P 氧化产电过程中的两个核心酶 G6PDH 和 6PGDH 均为  $\text{NAD}^+$  依赖性脱氢酶。为促进辅因子介导的电子生成和转移过程,可将辅因子和氧化还原酶共固定化,从而使固定化的辅因子能够保持在酶的附近而不被释放到溶液中,并利用电极加速辅因子的再生<sup>[68]</sup>。利用聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 构建酶-辅因子/电子中介体偶联物,包括 G6PDH- $\text{NAD}^+$ 、6PGDH- $\text{NAD}^+$  和 DI-BV<sup>2+</sup>,并应用于 G6P 的产

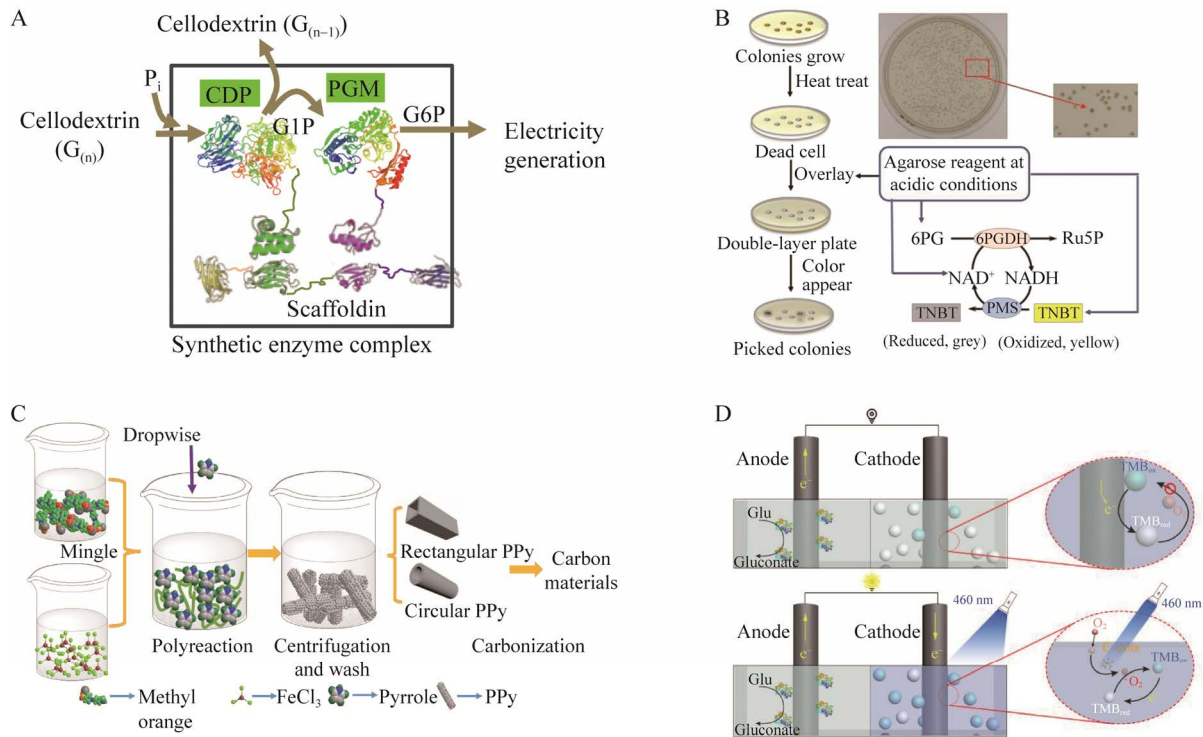


图 5 基于体外多酶途径的糖底物酶燃料电池功率和性能提升策略<sup>[53,65-67]</sup> A: 双酶复合体提高基于体外多酶途径的纤维素糊精氧化产电速度<sup>[53]</sup>; B: 通过定向进化, 利用双层筛选方法快速识别 6PGDH 突变体以提高 pH 耐受性<sup>[65]</sup>; C: 碳化聚吡咯电极材料的制备原理图<sup>[66]</sup>; D: 基于碳点和 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB) 的光开关工作机制示意图<sup>[67]</sup>

Figure 5 Power and performance enhancement strategies for sugar substrate enzyme fuel cells based on *in vitro* synthetic enzymatic pathway<sup>[53,65-67]</sup>. (A) The two-enzyme complex increases the rate of cellulose dextrin oxidation and electricity generation based on *in vitro* synthetic enzymatic pathway<sup>[53]</sup>. (B) Double-layer screening method for the fast identification of 6PGDH mutants<sup>[65]</sup>. (C) Preparation of carbonized polypyrrole as an electrode material<sup>[66]</sup>. (D) Photo-switch working mechanism based on C-dots and TMB<sup>[67]</sup>.

电过程, 研究发现在低辅因子或电子中介体浓度条件下, 形成的偶联物可使电流密度和功率密度成倍增加, 并大大提高了燃料电池的稳定性<sup>[69]</sup>。与其他基于固定化辅因子的 EFC 相比, 该策略不仅避免了由于固定化而导致的辅因子浸出或失活, 还实现了可设计的酶-辅因子距离和构型。此外, 氧化还原酶改造也是调控界面电子传递的常用策略。酶的活性位点通常埋在蛋白质内部, 难以与电极直接接触, 不利于电子传递。通过删除在 N 端、C 端或 loop 区域

不维持蛋白质结构和功能的非必需氨基酸残基, 可使酶活性位点更加靠近电极表面, 从而缩短原始电子传递路径<sup>[70]</sup>。将包含 4 个亚基的 NiFe 氢酶 (*PfSHI*) 截短为 2 个亚基后, 由于酶与电极之间的电子传递距离缩短, 其电子传递速率较野生型酶提高了约 20 倍<sup>[71]</sup>。

由于大多数酶易失活, 且有些天然酶的活性较低, 导致 EFC 的功率低和稳定性相对较差, 可通过对氧化还原酶的蛋白质工程改造来提高酶催化活性和电子转移速度<sup>[72]</sup>。一方面,

可以通过挖掘天然热稳定性高的酶；另一方面，采用定向进化、理性设计和组合策略等可改善氧化还原酶的酶学性质，如活性、稳定性、最适 pH、热稳定性、对盐的耐受性以及辅酶偏好性等，从而增强电池性能。例如，在运行大功率葡萄糖 EFC 时，电流产生较快，葡萄糖氧化产生的酸性产物积累，导致 pH 值下降以及阳极酶的酸变性失活。因此，提高 EFC 的耐酸性能，特别是阳极酶的耐酸性能有利于电池的长期运行。本团队利用定向进化的方式筛选出了耐酸的 6PGDH<sup>[65]</sup>和 DI<sup>[73]</sup>突变体酶，在 pH 5.4 条件下的催化效率比野生型分别提高了 42 倍和 4 倍，且稳定性也有所改善 (图 5B)。

除对酶的改造外，电极材料的使用也影响 EFC 的性能。电极材料，尤其是纳米材料，可为酶提供大量附着位点和反应微环境，其优良的导电性也可以帮助电子从酶活性中心传递到电极表面。将矩形聚吡咯 (polypyrrole, RPPy) 管高温碳化后，用于构建葡萄糖 EFC，开路电压可达 1.16 V，最大功率密度为 0.35 mW/cm<sup>2</sup><sup>[66]</sup> (图 5C)。3 个 EFCs 串联起来能够持续点亮一个白色 LED 灯超过 48 h。利用一种新型氮氧共掺杂三维杂化碳气凝胶制备的集成电子皮肤，在乳酸驱动下可产生约 1.3 mW/cm<sup>2</sup> 的最大功率密度<sup>[74]</sup>。通过电极修饰材料或修饰官能团可以改变酶的定向固定方式。将 *Pf*SHI 固定在 4-甲基苄胺修饰的氨基化多壁碳纳米管上，*Pf*SHI 靠近疏水表面时会在电极上形成合适的空间构象<sup>[75]</sup>。EFCs 因其可持续性和生物相容性被认为是可植入生物医学装置的可靠电源。然而，由于体内反应物浓度受限以及生物电极污染和泄漏可能性，限制了 EFC 的实际应用。将新型二维金属碳化物纳米材料 Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub> 金属碳化物作为一种大比表面积、高导电性的纳米薄片应用于 EFC 中，制备生物阳极，以 5 mmol/L 葡萄糖为底物，在

流动条件下可获得最大功率密度 0.32 mW/cm<sup>2</sup> 和最大电流密度 2.1 mA/cm<sup>2</sup>，能够连续放电约 20 d<sup>[76]</sup>。该模型有望应用于 EFC 的体内植入式设备并长期运行。

由于酶反应一旦开始，EFC 阳极中的燃料就会持续消耗，在不需要使用电能时会造成能量的浪费，因此，需要对 EFCs 的输出进行控制。除常用的反应温度和 pH 控制外，还可通过光照控制。例如，利用 G6PDH 和 DI 与自然光感受器“Mag”的融合蛋白所构建的 EFC，其输出电流和功率密度对蓝光具有敏感和高效的响应，光照 20 min 后电流从 5.9 μA 增至 10.8 μA，重回黑暗条件电流则在 30 min 内回落至初始水平<sup>[77]</sup>。通过设计一种可催化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB) 光氧化的新型碳点纳米酶作为阴极的光电开关，实现了 EFC 的电流和功率密度的快速、灵敏和可重复调节 (图 5D)<sup>[67]</sup>。蓝光照射 20 min 后，光电开关 EFC 的电流从 2.3 μA 增加至约 9 μA，功率密度从 2.8 μW/cm<sup>2</sup> 增加至 35.0 μW/cm<sup>2</sup>，比大多数文献报道的光电开关效果显著。

### 3 氢或电到糖的转化

尽管利用体外多酶催化途径从糖产氢和从糖产电都已经取得了很好的效果，利用氢能或电能将二氧化碳高效转化为糖类却仍是当前研究面临的重要挑战。近年来，研究人员开发了多种化学方法，利用氢能或电能将二氧化碳高效地转化为一氧化碳<sup>[78]</sup>、甲烷<sup>[79]</sup>、甲醇<sup>[80-81]</sup>、甲酸<sup>[82-84]</sup>、乙醇<sup>[85]</sup>等小分子产品。虽然上述方法尚未能高效地将二氧化碳转化为糖类，却为我们以二氧化碳和氢能、电能等可再生能源利用化学-酶法合成糖类奠定了理论基础。

在本小节中，我们介绍了两例化学-生物法结合的最新研究成果，分别利用氢能和电



能, 将二氧化碳转化为糖类。此外, 我们还将介绍另一种具有高能量效率的, 基于氢能/电能进行二氧化碳固定的全新的体外多酶催化反应路径。

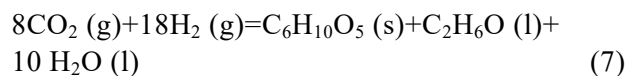
### 3.1 利用化学-酶法将氢气和二氧化碳转化为淀粉

中国科学院天津工业生物技术研究所 (以下简称“天津工业生物所”) 的马延和团队提出了一种将化学催化与生物催化结合的设计思路, 在国际上首次以二氧化碳和氢气为原料实现了淀粉的从头合成<sup>[25]</sup>。由于酶催化反应通常在水溶液中进行, 研究人员选择了水溶性良好的甲醇作为连接化学催化反应和体外多酶催化反应的中间体。反应路径的设计如下: 首先利用已建立的化学催化法, 在氧化锌-二氧化锆 (ZnO-ZrO<sub>2</sub>) 催化剂作用下对二氧化碳进行加氢反应, 生成甲醇<sup>[80]</sup>, 之后通过计算机路径设计, 构建了含有 10 种酶的体外多酶催化路径, 将甲醇转化为直链淀粉<sup>[25]</sup>。理论上, 该反应系统利用氢能生产甲醇以及将甲醇转化为淀粉的能量效率分别为 85% 和 61%。为了提高淀粉的合成效率, 研究人员采取了多种手段对上述系统进行优化, 包括: (1) 通过定向进化提高了限速的甲醛酶 (formolase) 的活性。(2) 通过蛋白质理性设计改造, 减少了辅酶 ATP 和 ADP 对果糖 1,6-双磷酸酶 (fructose-bisphosphatase) 的抑制, 并提高了二磷酸腺苷葡萄糖焦磷酸化酶 (ADP-glucose pyrophosphorylase) 利用 ATP 的能力。(3) 开发了时空分离的化学-酶反应体系。上述手段使该系统利用二氧化碳合成直链淀粉的速率提升至约 21.9 nmol 碳原子/(min·mg 总蛋白), 是玉米中通过卡尔文循环合成淀粉速率的 8.5 倍。在加入淀粉分支酶 (starch branching enzyme) 后, 该系统同样具备高效合成支链淀粉的能力。这项研究成果不仅为以二氧化碳为

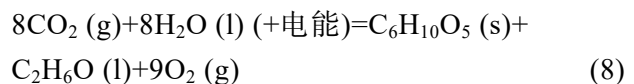
原料合成糖类开辟了新的技术路线, 同时也展现了合成生物学, 特别是体外多酶催化策略在解决瓶颈科技问题方面的巨大潜能, 得到了国内外领域专家的高度评价。

### 3.2 利用氢/电提供还原力, 通过体外多酶催化固定二氧化碳

在自然界中, 所有生物固定二氧化碳产糖的反应路径都需要 NADPH 和 ATP 的参与, 其中 NADPH 为反应提供还原力, ATP 作为额外的能量驱动力, 有助于热力学不利反应的进行。我们提出了高效利用氢能或电能生成还原力, 用于人工固定二氧化碳产淀粉的策略 (图 6)。其中, 利用氢能固定二氧化碳产淀粉的过程以二氧化碳和氢气为原料, 通过体外多酶催化, 生成淀粉、乙醇和水<sup>[86]</sup>, 总反应方程式如下:



利用电能固定二氧化碳产淀粉的策略以二氧化碳和水为原料, 生成淀粉、乙醇和氧气<sup>[86]</sup>, 总反应式如下:



上述催化过程可分为 6 个步骤, 包括: (1) 还原力 NADH 的生产, 以氢气为原料在氢酶 (H<sub>2</sub>ase) 和转氢酶 (transhydrogenase) 的催化下进行, 或通过电化学催化进行; (2) 通过甲酸脱氢酶 (formate dehydrogenase, FDH) 和甲醛脱氢酶 (formaldehyde dehydrogenase, FADH) 的级联催化, 将二氧化碳经由甲酸转化为甲醛; (3) 利用天然核酮糖单磷酸途径中的 6-磷酸己酮糖合成酶 (hexanose 6-phosphate synthase, HPS) 和磷酸己酮糖异构酶 (hexanose phosphate isomerase, PHI), 将甲醛和 Ru5P 固定为果糖 6-磷酸 (fructose 6-phosphate, F6P); (4) 一部分 F6P 用于淀粉的合成; (5) 另一部分 F6P 经由天然非氧化戊糖磷酸途径中的 8 种酶催化,



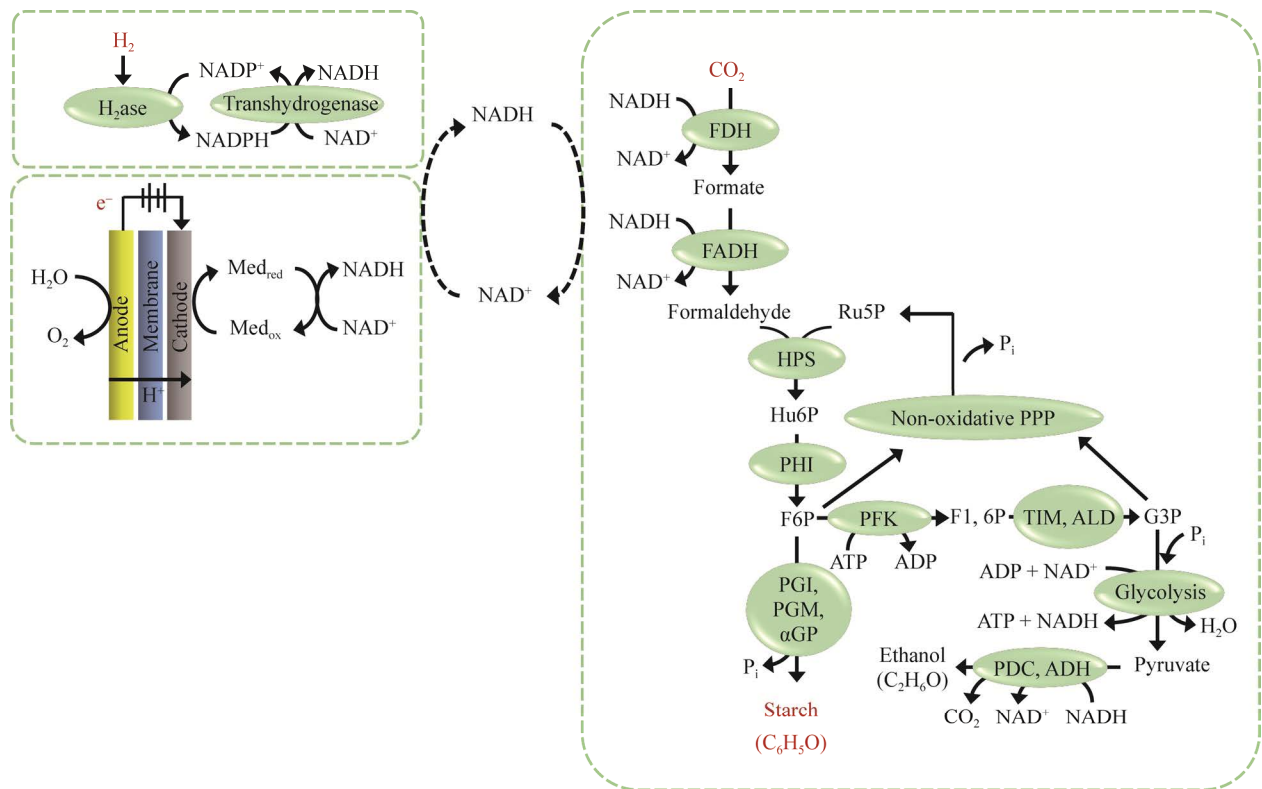


图6 利用氢/电提供还原力，通过体外多酶催化将二氧化碳转化为淀粉的非天然反应路径示意图<sup>[87]</sup>

Figure 6 Schematic diagram of an unnatural reaction pathway for conversion of carbon dioxide to starch by *in vitro* synthetic enzymatic pathway using hydrogen/electricity to provide reducing power<sup>[87]</sup>.

重新转化为 Ru5P，同时生成甘油醛 3-磷酸 (glyceraldehyde-3-phosphate, G3P); (6) G3P 经由糖酵解途径生成乙醇。在上述反应系统中，磷酸果糖激酶 (phosphofructokinase, PFK) 和糖酵解路径中的丙酮酸激酶 (pyruvate kinase, PK) 催化不可逆的反应，有助于拉动整体反应朝着所需的方向进行。此外，氢能驱动二氧化碳固定产淀粉总反应的标准吉布斯自由能变化为 $-54.5 \text{ kJ/mol}$ ，而利用电解水过程中再生的 NADH，通过体外多酶催化固定二氧化碳的总反应标准吉布斯自由能变化为 $-460.4 \text{ kJ/mol}$ ，从热力学角度预示了氢/电驱动二氧化碳产淀粉的可行性<sup>[3]</sup>。我们所设计的反应系统不仅可以在温和的条件下进行反应，系统中的 ATP 和 NADH 都能够达到平衡，并且具有高能量转化

效率，以氢能或电能驱动二氧化碳产淀粉的理论能量效率分别为 81.4% 和 99.5%<sup>[3]</sup>。此外，与前述研究相比，本系统有望摆脱对化学法的依赖，在未来实现从二氧化碳到糖类的人工生物转化。

## 4 总结与展望

过去十几年中，本团队在电-氢-糖循环新能源体系的构建与强化方面取得了一系列成果，特别是基于体外多酶催化的方式，展示了该体系在能量转化效率、反应速率、操作便捷性等方面的诸多优点。除此之外，电-氢-糖循环向外延伸以淀粉/木质纤维素等为核心的体外合成生物制造正在发挥巨大的作用，生产出更具有竞争力成本的生物基产品。肌醇（维生

素 B<sub>8</sub>) 是人、动物和植物生长的必需维生素, 广泛应用于医药、食品、饲料和化妆品等行业。天津工业生物所张以恒研究员设计构建体外多酶催化系统, 解析葡萄糖分子内 C-C 连接成环的酶分子机理, 实现从淀粉转化高效、定向生产肌醇<sup>[12]</sup>。相比传统高温加压植酸水解的生产路线, 降低能耗 98%, 减少空气污染 99%, 减少磷污染 99%, 降低生产成本 75%, 扩大肌醇生产原料来源 10 000 倍。生产低成本肌醇又将大大扩展它的应用场景, 从现有主流维生素、药物辅剂和动物饲料添加扩展到新应用, 如锂电池电解液组分、高爆炸药前体、植物叶面肥等。合作方四川博浩达生物技术有限公司建成万吨级绿色生物制造生产线, 现在该公司成为全球最大的肌醇生产企业, 实现新增利税超过 5 亿元。天津工业生物所领导整个多酶催化淀粉生产肌醇项目的全过程创新, 实现从 0-1 和 1-100 的全过程突破, 是全球第一个也是唯一的体外合成生物学的工业化成功范例。另外, 张以恒研究员首次提出体外多酶催化系统“秸秆制淀粉”技术方案, 通过 100% 能效留存的糖苷键定向重排将纤维素转化为淀粉, 同时解决粮食安全以及秸秆处理和利用的问题<sup>[15]</sup>。为了进一步提高生物炼制工厂的经济可行性, 笔者团队创制第一个人工酶——D-木酮糖 4-差向异构酶, 能将半纤维素 D-木糖转化为高值健康糖——L-阿拉伯糖。体外多酶催化系统充分利用秸秆联产淀粉、单细胞蛋白和健康糖的技术, 对解决人类面临的粮食短缺、蛋白质短缺、环境污染、碳中和等问题具有重大意义。

目前, 电-氢-糖循环仍有些许问题亟需解决。首先, 适用于相关体系的酶和辅酶元件以及电子传递、物质循环 (碳重排)、辅酶再生等模块仍然有限。这些生物元件和模块在体外的

活性、稳定性会影响所在体系的性能, 并且相互的适配与协同仍是一大挑战。另一方面, 电-氢-糖循环往往还涉及材料科学等非生物领域的交叉融合, 特别是与电能产生或利用相关的体系, 电极材料制备、电反应器构建、电化学过程机理等诸多问题还需解决, 以形成与生物元件和模块的良性互作。此外, 为了实现体系的应用, 需要进一步完善其工程化, 如构建标准化的元件与模块、降低总体成本、实现反应的有效控制以及能量持续稳定地输出或转化等。

为了解决上述问题, 可以采取的策略包括: (1) 设计或发现更多性能优异的酶、人工酶和仿生辅酶元件, 可采用最新的生物信息学工具和人工智能手段, 结合现有的理性改造、定向进化等方式, 实现酶的创制和性能提升。此外, 通过辅酶工程实现对更稳定、成本更低的人工仿生辅酶的有效利用。(2) 创制多酶复合体、人工电子传递链、固定化酶与材料复合物等, 提升系统催化活性和稳定性、电子和物质传递能力, 以及降低整个体系成本。开发化学催化、纳米材料等非生物技术手段以弥补部分生物催化过程的不足, 例如在电能驱动二氧化碳高效还原方面。(3) 设计创建更多更加高效的人工途径。值得注意的是, 多酶途径并非越短越好, 而是针对具体的需求设计最合适最高效的方式, 并形成各个步骤环节的高度协同, 通过模块化的策略实现体系整体性能最优。

最后, 需要指出的是, 电-氢-糖循环是能源领域的理论创新, 在与其他能源路线相比时, 需重点考虑其能量转化效率、反应速率、经济性、生态环境效益等, 以综合评价其可行性与应用前景。我们期待在未来, 可以突破上述挑战, 提供一种低成本、碳中性、高便捷性

氢能和电能供给的生物解决方案, 促进经济和社会的绿色低碳可持续发展。

## REFERENCES

- [1] Wang F, Harindintwali JD, Yuan ZZ, et al. Technologies and perspectives for achieving carbon neutrality. *Innovation (Camb)*, 2021, 2(4): 100180.
- [2] Glenk G, Reichelstein S. Economics of converting renewable power to hydrogen. *Nat Energy*, 2019, 4 (3): 216-222.
- [3] Zhang YHP, Huang WD. Constructing the electricity-carbohydrate-hydrogen cycle for a sustainability revolution. *Trends Biotechnol*, 2012, 30(6): 301-306.
- [4] Zhang YHP. A sweet out-of-the-box solution to the hydrogen economy: is the sugar-powered car science fiction? *Energy Environ Sci*, 2009, 2(3): 272-282.
- [5] Zhang YHP. Renewable carbohydrates are a potential high-density hydrogen carrier. *Int J Hydrog Energy*, 2010, 35(19): 10334-10342.
- [6] Liu JC, Wang SJ, Wei QS, et al. Present situation, problems and solutions of China's biomass power generation industry. *Energy Policy*, 2014, 70: 144-151.
- [7] Huang WD, Percival Zhang YH. Energy efficiency analysis: biomass-to-wheel efficiency related with biofuels production, fuel distribution, and powertrain systems. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22113.
- [8] Zhang YHP. Production of biocommodities and bioelectricity by cell-free synthetic enzymatic pathway biotransformations: challenges and opportunities. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 105(4): 663-677.
- [9] Zhang YHP, Sun JB, Zhong JJ. Biofuel production by *in vitro* synthetic enzymatic pathway biotransformation. *Curr Opin Biotechnol*, 2010, 21(5): 663-669.
- [10] Zhu ZG, Tam TK, Percival Zhang YH. Cell-free biosystems in the production of electricity and bioenergy. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2013, 137: 125-152.
- [11] Zhang YHP. Production of biofuels and biochemicals by *in vitro* synthetic biosystems: opportunities and challenges. *Biotechnol Adv*, 2015, 33(7): 1467-1483.
- [12] You C, Shi T, Li YJ, et al. An *in vitro* synthetic biology platform for the industrial biomanufacturing of myo-inositol from starch. *Biotechnol Bioeng*, 2017, 114(8): 1855-1864.
- [13] Kim EJ, Kim JE, Zhang YHPJ. Ultra-rapid rates of water splitting for biohydrogen gas production through *in vitro* artificial enzymatic pathways. *Energy Environ Sci*, 2018, 11(8): 2064-2072.
- [14] Zhu Z, Kin Tam T, Sun F, et al. A high-energy-density sugar biobattery based on a synthetic enzymatic pathway. *Nat Commun*, 2014, 5: 3026-3033.
- [15] You C, Chen HG, Myung S, et al. Enzymatic transformation of nonfood biomass to starch. *PNAS*, 2013, 110(18): 7182-7187.
- [16] Lim HJ, Kim DM. Cell-free synthesis of industrial chemicals and biofuels from carbon feedstocks. *Curr Opin Biotechnol*, 2022, 73: 158-163.
- [17] Bowie JU, Sherkhonov S, Korman TP, et al. Synthetic biochemistry: the bio-inspired cell-free approach to commodity chemical production. *Trends Biotechnol*, 2020, 38(7): 766-778.
- [18] Taniguchi H, Okano K, Honda K. Modules for *in vitro* metabolic engineering: pathway assembly for bio-based production of value-added chemicals. *Synth Syst Biotechnol*, 2017, 2(2): 65-74.
- [19] Ye XH, Wang YR, Hopkins RC, et al. Spontaneous high-yield production of hydrogen from cellulosic materials and water catalyzed by enzyme cocktails. *ChemSusChem*. 2009, 2(2): 149-52.
- [20] Del Campo JSM, Rollin J, Myung S, et al. High-yield production of dihydrogen from xylose by using a synthetic enzyme cascade in a cell-free system. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013, 52(17): 4587-4590.
- [21] Myung S, Rollin J, You C, et al. *In vitro* metabolic engineering of hydrogen production at theoretical yield from sucrose. *Metab Eng*, 2014, 24: 70-77.
- [22] Rollin JA, Martin Del Campo J, Myung S, et al. High-yield hydrogen production from biomass by *in vitro* metabolic engineering: mixed sugars coutilization and kinetic modeling. *PNAS*, 2015, 112(16): 4964-4969.
- [23] Kim JE, Kim EJ, Chen H, et al. Advanced water splitting for green hydrogen gas production through complete oxidation of starch by *in vitro* metabolic engineering. *Metab Eng*, 2017, 44: 246-252.
- [24] Huffman MA, Fryszkowska A, Alvizo O, et al. Design of an *in vitro* biocatalytic cascade for the manufacture of islatravir. *Science*, 2019, 366(6470): 1255-1259.
- [25] Cai T, Sun HB, Qiao J, et al. Cell-free chemoenzymatic starch synthesis from carbon dioxide. *Science*, 2021, 373(6562): 1523-1527.
- [26] Rogers TA, Bommarius AS. Utilizing simple biochemical measurements to predict lifetime output of

- biocatalysts in continuous isothermal processes. *Chem Eng Sci*, 2010, 65(6): 2118-2124.
- [27] Myung S, Wang YR, Zhang YHP. Fructose-1,6-bisphosphatase from a hyper-thermophilic bacterium *Thermotoga maritima*: characterization, metabolite stability, and its implications. *Process Biochem*, 2010, 45(12): 1882-1887.
- [28] Wang YR, Percival Zhang YH. Overexpression and simple purification of the *Thermotoga maritima* 6-phosphogluconate dehydrogenase in *Escherichia coli* and its application for NADPH regeneration. *Microb Cell Fact*, 2009, 8: 30.
- [29] Giver L, Gershenson A, Freskgard PO, et al. Directed evolution of a thermostable esterase. *PNAS*, 1998, 95(22): 12809-12813.
- [30] Zhang YHP, Myung S, You C, et al. Toward low-cost biomanufacturing through *in vitro* synthetic biology: bottom-up design. *J Mater Chem*, 2011, 21(47): 18877-18886.
- [31] Ye J, Li YJ, Bai YQ, et al. A facile and robust T7-promoter-based high-expression of heterologous proteins in *Bacillus subtilis*. *Bioresour Bioprocess*, 2022, 9(1): 1-12.
- [32] Luo S, Lin PP, Nieh LY, et al. A cell-free self-replenishing CO<sub>2</sub>-fixing system. *Nat Catal*, 2022, 5(2): 154-162.
- [33] Nowak C, Pick A, Lommes P, et al. Enzymatic reduction of nicotinamide biomimetic cofactors using an engineered glucose dehydrogenase: providing a regeneration system for artificial cofactors. *ACS Catal*, 2017, 7(8): 5202-5208.
- [34] Wang W, Liu MX, You C, et al. ATP-free biosynthesis of a high-energy phosphate metabolite fructose 1,6-diphosphate by *in vitro* metabolic engineering. *Metab Eng*, 2017, 42: 168-174.
- [35] Meng DD, Wei XL, Zhang Y, et al. Stoichiometric conversion of cellulosic biomass by *in vitro* synthetic enzymatic biosystems for biomanufacturing. *ACS Catal*, 2018, 8(10): 9550-9559.
- [36] Wang YR, Huang WD, Sathitsuksanoh N, et al. Biohydrogenation from biomass sugar mediated by *in vitro* synthetic enzymatic pathways. *Chem Biol*, 2011, 18(3): 372-380.
- [37] Opgenorth PH, Korman TP, Bowie JU. A synthetic biochemistry module for production of bio-based chemicals from glucose. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(6): 393-395.
- [38] Sharma K. Carbohydrate-to-hydrogen production technologies: a mini-review. *Renew Sust Energ Rev*, 2019, 105: 138-143.
- [39] Wu YR, Zhang MM, Zhong MQ, et al. Synergistic enzymatic saccharification and fermentation of agar for biohydrogen production. *Bioresour Technol*, 2017, 241: 369-373.
- [40] Veit A, Akhtar MK, Mizutani T, et al. Constructing and testing the thermodynamic limits of synthetic NAD(P)H: H<sub>2</sub> pathways. *Microb Biotechnol*, 2008, 1(5): 382-394.
- [41] Chou CJ, Jenney FE Jr, Adams MWW, et al. Hydrogenesis in hyperthermophilic microorganisms: implications for biofuels. *Metab Eng*, 2008, 10(6): 394-404.
- [42] Zhang YHP, Evans BR, Mielenz JR, et al. High-yield hydrogen production from starch and water by a synthetic enzymatic pathway. *PLoS One*, 2007, 2(5): e456.
- [43] Moustafa H, Kim EJ, Zhu ZG, et al. Water splitting for high-yield hydrogen production energized by biomass xylooligosaccharides catalyzed by an enzyme cocktail. *Chemcatchem*, 2016, 8(18): 2898-2902.
- [44] Liao HH, Myung S, Zhang YHP. One-step purification and immobilization of thermophilic polyphosphate glucokinase from *Thermobifida fusca* YX: glucose-6-phosphate generation without ATP. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 93(3): 1109-1117.
- [45] Kim EJ, Wu CH, Adams MWW, et al. Exceptionally high rates of biological hydrogen production by biomimetic *in vitro* synthetic enzymatic pathways. *Chemistry*, 2016, 22(45): 16047-16051.
- [46] Huang R, Chen H, Zhong C, et al. High-throughput screening of coenzyme preference change of thermophilic 6-phosphogluconate dehydrogenase from NADP<sup>+</sup> to NAD<sup>+</sup>. *Sci Rep*, 2016, 6: 32644.
- [47] Chen H, Zhu Z, Huang R, et al. Coenzyme engineering of a hyperthermophilic 6-phosphogluconate dehydrogenase from NADP<sup>+</sup> to NAD<sup>+</sup> with its application to biobatteries. *Sci Rep*, 2016, 6: 36311.
- [48] Sakai H, Nakagawa T, Tokita Y, et al. A high-power glucose/oxygen biofuel cell operating under quiescent conditions. *Energy Environ Sci*, 2009, 2(1): 133-138.
- [49] Cosnier S, Shan D, Ding SN. An easy compartment-less biofuel cell construction based on the physical co-inclusion of enzyme and mediator redox within pressed graphite discs. *Electrochem Commun*, 2010, 12(2): 266-269.
- [50] Xu S, Minteer S. Enzymatic biofuel cell for oxidation

- of glucose to CO<sub>2</sub>. ACS Catal, 2012, 2(1): 91-94.
- [51] Zhu ZG, Sun FF, Zhang XZ, et al. Deep oxidation of glucose in enzymatic fuel cells through a synthetic enzymatic pathway containing a cascade of two thermostable dehydrogenases. Biosens Bioelectron, 2012, 36(1): 110-115.
- [52] Zhu ZG, Wang YR, Minteer SD, et al. Maltodextrin-powered enzymatic fuel cell through a non-natural enzymatic pathway. J Power Sources, 2011, 196(18): 7505-7509.
- [53] Meng DD, Wu RR, Wang J, et al. Acceleration of cellodextrin phosphorolysis for bioelectricity generation from cellulosic biomass by integrating a synthetic two-enzyme complex into an *in vitro* synthetic enzymatic biosystem. Biotechnol Biofuels, 2019, 12: 267.
- [54] Zhu ZG, Zhang YHP. *In vitro* metabolic engineering of bioelectricity generation by the complete oxidation of glucose. Metab Eng, 2017, 39: 110-116.
- [55] Zhu ZG, Ma CL, Zhang YHP. Co-utilization of mixed sugars in an enzymatic fuel cell based on an *in vitro* enzymatic pathway. Electrochimica Acta, 2018, 263: 184-191.
- [56] Li GW, Wei XL, Wu RR, et al. Stoichiometric conversion of maltose for biomanufacturing by *in vitro* synthetic enzymatic biosystems. Biodesign Res, 2022, 2022: 1-11.
- [57] Wu RR, Ma CL, Zhang YHP, et al. Complete oxidation of xylose for bioelectricity generation by reconstructing a bacterial xylose utilization pathway *in vitro*. ChemCatChem, 2018, 10(9): 2030-2035.
- [58] Shi PK, Wu RR, Wang J, et al. Biomass sugar-powered enzymatic fuel cells based on a synthetic enzymatic pathway. Bioelectrochemistry, 2022, 144: 108008.
- [59] Wang LL, Gong WC, Wang F, et al. Efficient bienzyme nanocomposite film for chiral recognition of L-tryptophan, L-phenylalanine and L-tyrosine. Anal Methods, 2016, 8(17): 3481-3487.
- [60] Vargas E, Ruiz MA, Ferrero FJ, et al. Automatic bionalyzer using an integrated amperometric biosensor for the determination of L-malic acid in wines. Talanta, 2016, 158: 6-13.
- [61] Sakamoto H, Komatsu T, Yamasaki K, et al. Design of a multi-enzyme reaction on an electrode surface for an L-glutamate biofuel anode. Biotechnol Lett, 2017, 39(2): 235-240.
- [62] Hirano Y, Ikegami M, Kowata K, et al. Bienzyme reactions on cross-linked DNA scaffolds for electrochemical analysis. Bioelectrochemistry, 2017, 113: 15-19.
- [63] Moehlenbrock MJ, Meredith MT, Minteer SD. Bioelectrocatalytic oxidation of glucose in CNT impregnated hydrogels: advantages of synthetic enzymatic metabolon formation. ACS Catal, 2012, 2(1): 17-25.
- [64] Behrendorff JBYH, Borràs-Gas G, Pribil M. Synthetic protein scaffolding at biological membranes. Trends Biotechnol, 2020, 38(4): 432-446.
- [65] Ma CL, Wu RR, Huang R, et al. Directed evolution of a 6-phosphogluconate dehydrogenase for operating an enzymatic fuel cell at lowered anodic pHs. J Electroanal Chem, 2019, 851: 113444.
- [66] Kang ZP, Zhang YHP, Zhu ZG. A shriveled rectangular carbon tube with the concave surface for high-performance enzymatic glucose/O<sub>2</sub> biofuel cells. Biosens Bioelectron, 2019, 132: 76-83.
- [67] Li ZH, Kang ZP, Zhu ZG. A photo-switch for enzymatic biofuel cells based on the photo-oxidization of electron acceptor in cathode by C-dots nanozyme. Chem Eng J, 2022, 428: 131258.
- [68] Song HY, Ma CL, Liu P, et al. A hybrid CO<sub>2</sub> electroreduction system mediated by enzyme-cofactor conjugates coupled with Cu nanoparticle-catalyzed cofactor regeneration. J CO<sub>2</sub> Util, 2019, 34: 568-575.
- [69] Song HY, Ma CL, Zhou W, et al. Construction of enzyme-cofactor/mediator conjugates for enhanced *in vitro* bioelectricity generation. Bioconjug Chem, 2018, 29(12): 3993-3998.
- [70] Razumiene J, Niculescu M, Ramanavicius A, et al. Direct bioelectrocatalysis at carbon electrodes modified with quinohemoprotein alcohol dehydrogenase from *Gluconobacter* sp. 33. Electroanalysis, 2002, 14(1): 43-49.
- [71] Wang YM, Song YH, Ma CL, et al. Electrochemical characterization of a truncated hydrogenase from *Pyrococcus furiosus*. Electrochimica Acta, 2021, 387: 138502.
- [72] Güven G, Prodanovic R, Schwaneberg U. Protein engineering-an option for enzymatic biofuel cell design. Electroanalysis, 2010, 22(7/8): 765-775.
- [73] Ma CL, Liu MX, You C, et al. Engineering a diaphorase via directed evolution for enzymatic biofuel cell application. Bioresour Bioprocess, 2020, 7(1): 1-11.
- [74] Kang ZP, Wang YM, Yang CN, et al. Multifunctional N and O co-doped 3D carbon aerogel as a monolithic

- electrode for either enzyme immobilization, oxygen reduction and showing supercapacitance. *Electrochimica Acta*, 2021, 395: 139179.
- [75] Wang YM, Kang ZP, Zhang LL, et al. Elucidating the interactions between a[NiFe]-hydrogenase and carbon electrodes for enhanced bioelectrocatalysis. *ACS Catal*, 2022, 12(2): 1415-1427.
- [76] Li ZH, Kang ZP, Wu B, et al. A MXene-based slurry bioanode with potential application in implantable enzymatic biofuel cells. *J Power Sources*, 2021, 506: 230206.
- [77] Yang CN, Li ZH, Ma CL, et al. Photoswitchable enzymatic biofuel cell based on fusion protein with natural photoreceptor *vivid*. *ACS Appl Bio Mater*, 2022, 5(2): 459-464.
- [78] Mariano RG, McKelvey K, White HS, et al. Selective increase in CO<sub>2</sub> electroreduction activity at grain-boundary surface terminations. *Science*, 2017, 358(6367): 1187-1192.
- [79] Umeda M, Niitsuma Y, Horikawa T, et al. Electrochemical reduction of CO<sub>2</sub> to methane on platinum catalysts without overpotentials: strategies for improving conversion efficiency. *ACS Appl Energy Mater*, 2020, 3(1): 1119-1127.
- [80] Wang JJ, Li GN, Li ZL, et al. A highly selective and stable ZnO-ZrO<sub>2</sub> solid solution catalyst for CO<sub>2</sub> hydrogenation to methanol. *Sci Adv*, 2017, 3(10): e1701290.
- [81] Wu Y, Jiang Z, Lu X, et al. Domino electroreduction of CO<sub>2</sub> to methanol on a molecular catalyst. *Nature*, 2019, 575(7784): 639-642.
- [82] Li J, Kuang Y, Meng Y, et al. Electroreduction of CO<sub>2</sub> to formate on a copper-based electrocatalyst at high pressures with high energy conversion efficiency. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(16): 7276-7282.
- [83] Duan YX, Zhou YT, Yu Z, et al. Boosting production of HCOOH from CO<sub>2</sub> electroreduction *via* Bi/CeO<sub>x</sub>. *Angew Chem Int Ed*, 2021, 60(16): 8798-8802.
- [84] Huang Y, Mao XN, Yuan GT, et al. Size-dependent selectivity of electrochemical CO<sub>2</sub> reduction on converted In<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanocrystals. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2021, 60(29): 15844-15848.
- [85] Song Y, Peng R, Hensley DK, et al. High-selectivity electrochemical conversion of CO<sub>2</sub> to ethanol using a copper nanoparticle/N-doped graphene electrode. *Chemistry Select*, 2016, 1(19): 6055-6061.
- [86] Zhang YHP. Simpler is better: high-yield and potential low-cost biofuels production through cell-free synthetic pathway biotransformation (S<sub>y</sub>PaB). *ACS Catal*, 2011, 1(9): 998-1009.
- [87] Zhang YHP, You C, Chen H, et al. Surpassing Photosynthesis: High-efficiency and scalable CO<sub>2</sub> utilization through artificial photosynthesis//Attalla. In recent advances in post-combustion CO<sub>2</sub> capture chemistry. Washington, DC: American Chemical Society, ACS Symposium Series, 2012, 1097: 275-292.

(本文责编 陈宏宇)