

## 特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2023-041

## 电能辅助二氧化碳生物转化

刘伟松<sup>1,2</sup>, 张坤城<sup>1,2</sup>, 崔会娟<sup>1</sup>, 朱之光<sup>1,2</sup>, 张以恒<sup>1,2</sup>, 张玲玲<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 中国科学院天津工业生物技术研究所, 低碳合成工程生物学重点实验室, 天津 300308; <sup>2</sup> 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** CO<sub>2</sub>排放带来全球性气候变化问题, 为此世界各国纷纷采取了一系列减排固碳措施。我国于2020年提出“碳达峰, 碳中和”发展目标, 推进固碳技术发展迫在眉睫。受益于近年来合成生物学领域的迅猛发展, 基于酶或微生物催化的CO<sub>2</sub>生物转化研究在酶元件、途径和系统的人工设计改造等方面取得一系列重要进展, 典型产物代表有燃料、氨基酸、淀粉、单细胞蛋白、生物塑料及其他多种生化产品。为此, CO<sub>2</sub>也被认为是第三代生物原料。CO<sub>2</sub>转化的关键在于外加能量活化CO<sub>2</sub>分子, 相比于光能、热能和化学能等, 电能在本成本投入和小型便捷方面优势突出, 因此更受科学界和产业界青睐。CO<sub>2</sub>生物转化利用电能分为两种方式, 即生物直接利用电能固定CO<sub>2</sub>和利用电能间接辅助CO<sub>2</sub>生物转化 [包括电催化CO<sub>2</sub>还原、电再生辅因子 (如NADH)、电解水制氢]。本文全面介绍了这两种方法在CO<sub>2</sub>生物转化方面的研究进展, 分析了可能的固碳机制, 并讨论了不同方法的优点和缺点。此外, 还提出了合成生物技术应对低效CO<sub>2</sub>生物转化时的可能策略如挖掘高活性固碳酶、酶工程改造提高酶与电极之间的电子传递效率、代谢工程改造丰富固碳微生物的产物种类和提高固碳效率等, 以期相关研究能真正走向实际应用, 助力我国双碳目标的实现。

**关键词:** CO<sub>2</sub>生物转化; 电催化; 甲酸脱氢酶; 一氧化碳脱氢酶; 固碳微生物

**中图分类号:** Q816 **文献标志码:** A

## Electro-assisted carbon dioxide biotransformation

LIU Weisong<sup>1,2</sup>, ZHANG Kuncheng<sup>1,2</sup>, CUI Huijuan<sup>1</sup>, ZHU Zhiguang<sup>1,2</sup>, ZHANG Yiheng<sup>1,2</sup>, ZHANG Lingling<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Engineering Biology for Low-Carbon Manufacturing, Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China; <sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** The increasing emission of CO<sub>2</sub> has resulted in severe climate problems, prompting global actions to reduce CO<sub>2</sub> emission or fix the atmospheric CO<sub>2</sub>. In 2020, China set targets for carbon peaking and carbon neutrality, making it an urgent need to develop carbon-fixation technologies. Attributed to the rapid emergence of synthetic biology in recent years, CO<sub>2</sub> biotransformation through biochemical reactions catalyzed by enzymes and microbes has

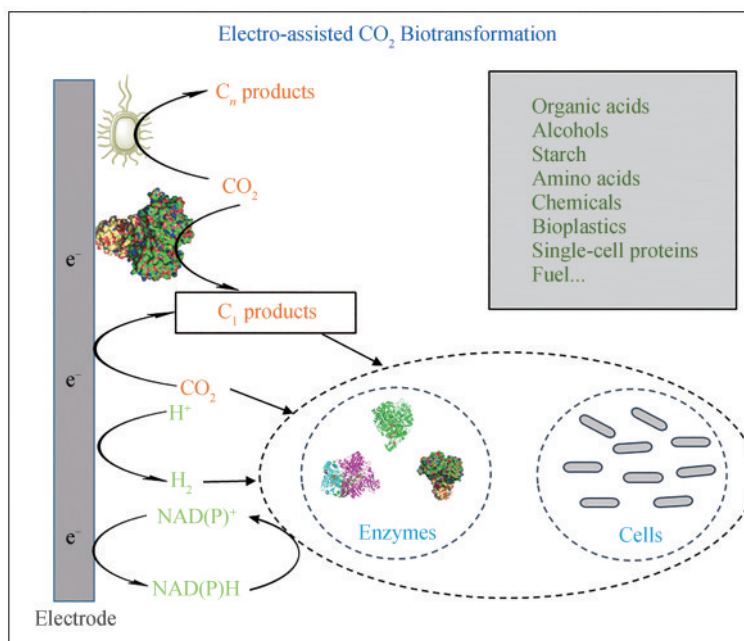
收稿日期: 2023-06-25 修回日期: 2023-08-28

基金项目: 天津市合成生物技术创新能力提升行动项目 (TSBICIP-CXRC-024, TSBICIP-KJGG-007); 中国科学院稳定支持基础研究领域青年团队计划 (YSBR-072-3)

引用本文: 刘伟松, 张坤城, 崔会娟, 朱之光, 张以恒, 张玲玲. 电能辅助二氧化碳生物转化[J]. 合成生物学, 2023, 4(6): 1191-1222

Citation: LIU Weisong, ZHANG Kuncheng, CUI Huijuan, ZHU Zhiguang, ZHANG Yiheng, ZHANG Lingling. Electro-assisted carbon dioxide biotransformation [J]. Synthetic Biology Journal, 2023, 4(6): 1191-1222

achieved a series of significant progress, in the design and engineering of enzymes, metabolic pathway, as well as the construction of *in vitro/vivo* systems. Many products, such as fuels, amino acids, starch, single-cell proteins, bio-based plastics, and other biocommodities, have been synthesized. Consequently, CO<sub>2</sub> is considered as the resource for third-generation biomanufacturing. The crucial step in CO<sub>2</sub> biotransformation is the activation of CO<sub>2</sub> molecules through the introduction of external energy. Compared to light, heat, and chemical energy, electrical energy is favored due to cost effectiveness, miniaturized apparatus, and convenience, attracting significant attention from both academia and industry. Electrical energy can be utilized in two ways for CO<sub>2</sub> biotransformation. In one way, CO<sub>2</sub> is electro-activated directly and biotransformed. In the other way, electrical energy facilitates the production of C<sub>1</sub> intermediate such as formate, carbinol, CO, and the C<sub>1</sub> intermediates are then transformed by coupled microorganisms or enzymes, or the production of reducing forces such as NADH and H<sub>2</sub>, which participate essentially in CO<sub>2</sub> biotransformation. This review comprehensively introduces research advancements in both approaches, analyzes potential carbon-fixation mechanisms, and discusses the advantages and disadvantages of different methods. Furthermore, the review proposes potential synthetic biology strategies to address efficiency concerns in CO<sub>2</sub> biotransformation, such as mining highly active carbon-fixing enzyme, enzyme engineering to improve the electron transfer efficiency between the enzyme and the electrode, metabolic engineering to enrich products of carbon-fixing microorganisms and improve the carbon-fixing efficiency, aiming to enable practical applications and the achievement of carbon neutrality goals.



**Keywords:** CO<sub>2</sub> biotransformation; electrocatalysis; formate dehydrogenase; carbon monoxide dehydrogenase; carbon-fixing microbes

随着工业化进程的不断深入，温室气体的大量排放导致了全球气温升高、海平面上升、冰川融化和土地沙漠化等严峻问题，严重威胁着人类的生存环境。为了应对全球性气候变化，我国于2020年提出“碳达峰，碳中和”发展目标。要实

现这一目标，一方面需要大幅度减少碳排放，利用可再生新能源替代化石能源，另一方面需要积极发展人工固碳技术以减小大气中现有CO<sub>2</sub>的浓度。碳捕集/封存是近年来大力发展的人工固碳技术，该技术将CO<sub>2</sub>从大气或工业生产过程中分离富

集起来, 然后注入到深部地质层封存, 或推动石油和天然气的开采<sup>[1-3]</sup>。然而, 这种物理固碳并未改变CO<sub>2</sub>存在形式, 封存的CO<sub>2</sub>不排除有再次释放到大气中的可能性。相比之下, CO<sub>2</sub>的资源化利用则是一种相对有效且具有巨大发展潜力的固碳技术, 特别是将CO<sub>2</sub>转化为其他含碳化合物并重新进入自然界的碳循环, 从而实现CO<sub>2</sub>的零净排放甚至负排放。这种技术有望促进“碳达峰, 碳中和”目标的实现, 从根本上解决能源和环境问题, 近年来受到了国际社会和科学界的高度关注<sup>[4-6]</sup>。

CO<sub>2</sub>转化利用的难点在于CO<sub>2</sub>处于完全氧化态, C=O键的结合能高达803 kJ/mol, 热力学稳定性高, 因此需要较高能量活化。自然界主要依赖光能转化CO<sub>2</sub>, 但太阳能转化效率不足1%, 且固碳速率缓慢。电能作为一种清洁的二次能源, 可广泛来源于光伏、风能、潮汐等可再生能源, 在CO<sub>2</sub>转化利用方面具有巨大应用潜力<sup>[7-11]</sup>。化学电催化可以相对高速地将CO<sub>2</sub>转化为C<sub>1</sub>/C<sub>2</sub>产物, 如CO、甲酸、甲醇、甲烷、乙醇、乙烯等, 催化剂主要为In、Sn、Bi、Hg、Cu、Zn、Ni、Cd等过渡金属及其合金、复合物等<sup>[10, 12-17]</sup>。尽管目前该领域已取得了巨大进展, 但化学电催化剂仍面临电催化过电势高、产物选择性低, 高碳数产物(C<sub>n</sub>, n>3)很难合成等问题。近年来, 随着合成

生物技术的蓬勃发展, CO<sub>2</sub>的生物转化利用被认为是继以糖类和生物质为原料之后的第三代生物炼制技术。生物催化具有催化专一性和较强的C—C偶联能力, 使其更利于C<sub>n</sub>的合成<sup>[4, 18-21]</sup>。

电能辅助CO<sub>2</sub>生物转化利用结合了电能的清洁性、化学电催化剂的高效性及酶催化或细胞工厂生物制造的多样性等多个优势, 为实现“双碳”目标提供了更高效的解决方案<sup>[22-25]</sup>。图1总结了目前常见的几种电能辅助CO<sub>2</sub>生物转化利用的策略。根据电能作用方式的不同, 可分为物直接利用电能固定CO<sub>2</sub>和利用电能间接辅助CO<sub>2</sub>生物转化[包括电催化CO<sub>2</sub>还原、电再生辅因子(如NADH)、电解水制氢]两种方法。根据生物催化剂的不同, 可以分为酶电催化和微生物电催化。尽管相关研究已经取得一些突破性的进展, 但碳固定效率低仍是亟待解决的问题之一, 这可能与电子传递效率较低、生物体系相对复杂、固碳/生物转化机制尚不完全清楚等因素有关<sup>[26-27]</sup>。因此, 针对目前生物电催化固定CO<sub>2</sub>的最新进展, 进行及时、系统、深入的整理分析, 具有重要的科技意义。本综述旨在围绕电能辅助CO<sub>2</sub>生物转化利用这一专题, 将CO<sub>2</sub>转化利用过程分解, 详细介绍各模块最新研究进展, 讨论其特色与优缺点, 分析可能的作用机制, 并最终经整合分析后形成结论。同时,

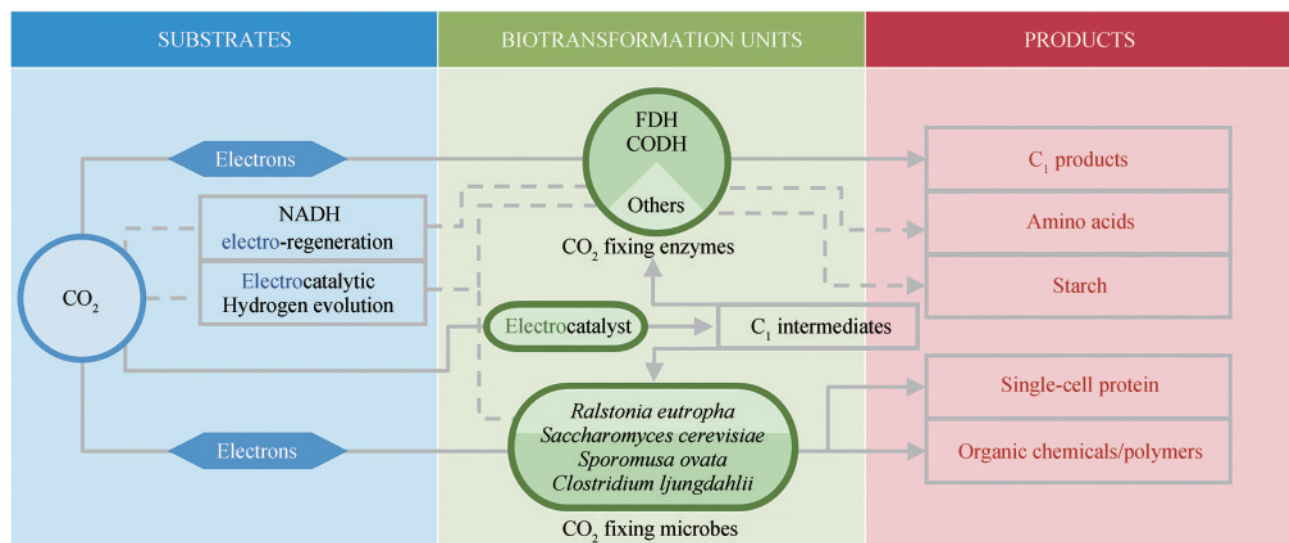


图1 电能辅助CO<sub>2</sub>生物转化的常见策略示意图

(实线: 直接利用电能转化路线; 虚线: 间接利用电能转化路线)

Fig. 1 Schematic diagram of common strategies for electro-assisted carbon dioxide biotransformation (Solid line: direct use of electric energy transformation route; Dashed line: indirect use of electric energy transformation route)

本综述针对当前挑战,提出了整体固碳效率的提升策略,期望能够更深入系统地理解电能辅助CO<sub>2</sub>生物转化利用过程,为该领域的长足发展提供原动力。

## 1 酶电催化固定CO<sub>2</sub>

酶催化固定CO<sub>2</sub>涉及多种酶类,包括甲酸脱氢酶(formate dehydrogenase, FDH)、一氧化碳脱氢酶(carbon monoxide dehydrogenase, CODH)、改性固氮酶(remodeled nitrogenases, RN)和羧化酶类(carboxylases)<sup>[28]</sup>。其中FDH、CODH和RN均属于氧化还原酶类,能催化CO<sub>2</sub>还原分别产生甲酸、CO或甲烷。酶电催化固定CO<sub>2</sub>体系将上述酶固定在电极表面,通过外接电源提供电子实现CO<sub>2</sub>的还原,体系简单,易于操作,避免了生物体内固碳途径的复杂性,有望提高CO<sub>2</sub>转化效率<sup>[29]</sup>。酶电催化体系的性能取决于氧化还原酶的稳定性、催化活性以及酶与电极之间的电子传递效率<sup>[30]</sup>。以下将依次针对上述提到的三类氧化还原酶的电催化展开讨论,并针对羧化酶的相关进

展做简要讨论。

### 1.1 甲酸脱氢酶电催化

FDH是一类广泛存在于自然界的氧化还原酶,能催化甲酸/CO<sub>2</sub>可逆转化。根据其催化中心不同,可分为非金属依赖型甲酸脱氢酶和金属依赖型甲酸脱氢酶两类<sup>[31]</sup>。如表1所示,非金属依赖的甲酸脱氢酶主要以NAD(P)H作为辅因子,而金属依赖的甲酸脱氢酶主要指以钼(molybdenum, Mo)或钨(tungsten, W)钨为活性中心的FDH。FDH能催化CO<sub>2</sub>还原产生在室温下稳定的甲酸,也可作为以CO<sub>2</sub>为原料生产高需求化学品的第一步关键酶与其他酶类进行级联。因此,FDH是一种极具吸引力的还原CO<sub>2</sub>的生物催化剂<sup>[31]</sup>。

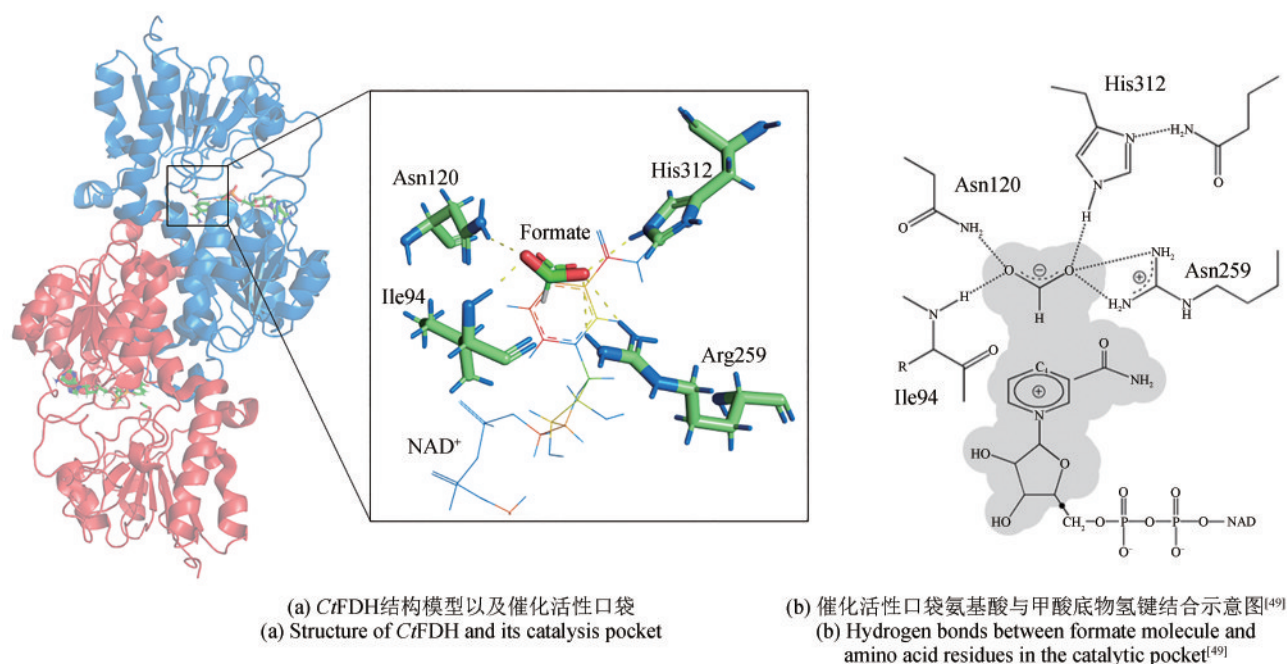
#### 1.1.1 非金属依赖型甲酸脱氢酶

非金属依赖型FDH通常存在于真菌中,多数是同源二聚体,结构高度保守,在催化过程中,FDH以NAD(P)<sup>+</sup>/NAD(P)H作为电子受体或供体,因此又被称为NAD(P)H依赖型甲酸脱氢酶<sup>[49]</sup>。以CtFDH为例(图2),在催化过程中,酶与NAD<sup>+</sup>结合,NAD<sup>+</sup>的烟酰胺环结构朝内、腺嘌呤结构朝

表1 非金属依赖型甲酸脱氢酶和金属依赖型甲酸脱氢酶催化CO<sub>2</sub>还原

Table 1 Metal-independent and -dependent formate dehydrogenases for CO<sub>2</sub> reduction

分类 Classification	酶 Enzymes	物种 Organism	类型 Classification	电子供体 Electron donor	$k_{cat}/s$	参考文献 References
Metal-independent	CbFDH	<i>Candida boidinii</i>	NAD <sup>+</sup> -dependent	NADH	0.1	[32]
	TsFDH	<i>Thiobacillus</i> sp.KNK65MA	NAD <sup>+</sup> -dependent	NADH	0.3	[33]
	MtFDH	<i>Myceliophthora thermophila</i>	NAD <sup>+</sup> -dependent	NADH	0.1	[34]
	CmFDH	<i>Candida methylca</i>	NAD <sup>+</sup> -dependent	NADH	0.01	[35]
	CtFDH	<i>Chaetomium thermophilum</i>	NAD <sup>+</sup> -dependent	NADH	0.02	[36]
	PoFDH	<i>Pseudomonas oxalaticus</i>	NAD <sup>+</sup> -dependent	NADH	3	[37]
Metal-dependent	SjFDH-1	<i>Syntrophobacter fumaroxidans</i>	W-containing	MV <sup>+</sup>	0.04	[38]
	SjFDH-2	<i>Syntrophobacter fumaroxidans</i>	W-containing	MV <sup>+</sup>	0.01	[38]
	DvFDH	<i>Desulfovibrio vulgaris Hildenborough</i>	W-containing	MV <sup>+</sup>	3	[39]
	TkFDH	<i>Thermoanaerobacter kuvui</i>	W-containing	H <sub>2</sub>	2654	[40]
	CcFDH	<i>Clostridium carboxidivorans</i>	W-containing	NADH	0.08	[41]
	EcFDH	<i>Escherichia coli</i>	Mo-containing	MV <sup>+</sup>	<1	[42]
	CjFDH	<i>Clostridium ljungdahlii</i>	Mo-containing	NADH	0.01	[43]
	RcFDH	<i>Rhodobacter capsulatus</i>	Mo-containing	NADH	1.48	[44]
	DdFDH	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Mo-containing	MV <sup>+</sup>	46.6	[45]
	CnFDH	<i>Cupriavidus necator</i>	Mo-containing	NADH	11	[46]
	RaFDH	<i>Rhodobacter aestuarii</i>	Mo-containing	NADH	0.8	[47]
	AwFDH	<i>Acetobacterium woodii</i>	Mo-containing	H <sub>2</sub>	28	[48]

图2 *Ct*FDH的三维结构和活性中心Fig. 2 Three-dimensional structure and active center of *Ct*FDH

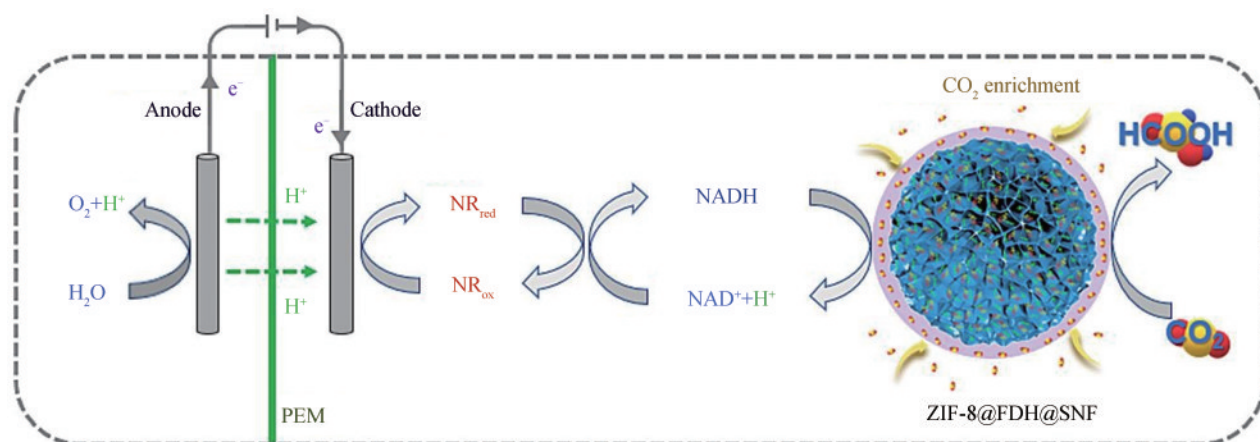
外，与下半球体结构紧密接触，NAD<sup>+</sup>烟酰胺环上的氮原子分别与Thr257/Asp283/His312/Ser314形成氢键，氧原子与His312/Ser348/Gly349形成氢键。甲酸分子的一个氧原子与Ile94的主链氨基和Asn120侧链氨基形成氢键，另一个氧原子与His312的侧链上的氮原子、Arg259侧链两个氨基以及NAD<sup>+</sup>烟酰胺环上的氧原子形成氢键，从而贴近NAD<sup>+</sup>烟酰胺环的四位，以利于催化的发生<sup>[49]</sup>。非金属依赖型FDH催化CO<sub>2</sub>形成甲酸的机制通常认为是NADH和HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>之间电子的直接转移。HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>得到NADH的电子，随后碳氧键断裂，得到H<sup>+</sup>形成甲酸分子，NADH被氧化为NAD<sup>+</sup>，甲酸和NAD<sup>+</sup>随后离开催化口袋<sup>[50]</sup>。非金属依赖的FDH催化CO<sub>2</sub>还原依赖于NADH，为了降低NADH的投入成本，通常需要引入另外的酶和共底物来循环NADH再生，然而，引入其他酶和底物会增加反应体系的复杂性，且产物分离较困难。相比之下，电极在施加电压的情况下可以还原NAD<sup>+</sup>产生NADH，且无需额外添加其他成分，因此酶电催化体系更加简单且产物分离更容易。所以在以非金属依赖的FDH构建的CO<sub>2</sub>酶电催化还原体系中，电子转移从电极转移（偶联质子转移）到NAD<sup>+</sup>上产生NADH，起到循环辅因子NADH的作用。

非金属依赖型FDH电催化还原CO<sub>2</sub>可追溯到20世纪80年代，Weaver等<sup>[51]</sup>将*Po*FDH与半导体材料——p型磷化铟（p-type indium phosphide, p-InP）相结合，并以甲基紫精（MV<sup>2+</sup>）作为电子中介体，实现了光诱导FDH还原CO<sub>2</sub>。Kim等<sup>[52]</sup>首次构建了*Cb*FDH的酶电催化体系，以铈金属上构建的铜箔电极作为阴极材料催化NAD<sup>+</sup>的还原，在1.0 V vs Ag/AgCl电压下甲酸产生速率为2.1×10<sup>-3</sup> μmol/(mg *Cb*FDH·min)。进一步优化阴极材料为电沉积形成的铜纳米晶体，甲酸生成速率提高了3倍，达6.28×10<sup>-3</sup> μmol/(mg *Cb*FDH·min)<sup>[53]</sup>。由此可见，优良的阴极材料能提高还原NAD<sup>+</sup>的速率，从而提高FDH还原CO<sub>2</sub>的效率。Srikanth等<sup>[54]</sup>首次构建了H-Cell的两极室系统，通过中性红为电子中介体还原NAD<sup>+</sup>，在电解液中游离的*Cb*FDH还原CO<sub>2</sub>的速率达0.15 μmol/(mg *Cb*FDH·min)，但游离的*Cb*FDH稳定性较差，在1.0 V的电压下稳定性仅能保持45 min，这主要是由于阳极室产生质子转移至阴极室引起了阴极电解液pH的降低，致使*Cb*FDH失活。Zhang等<sup>[55]</sup>通过以四烷基季铵盐修饰Nafion形成的Nafion胶束固定*Cb*FDH，从而保护*Cb*FDH免受pH变化导致的失活，与游离酶相比，该体系稳定性提高了3倍以上。Barin等<sup>[56]</sup>将*Cb*FDH

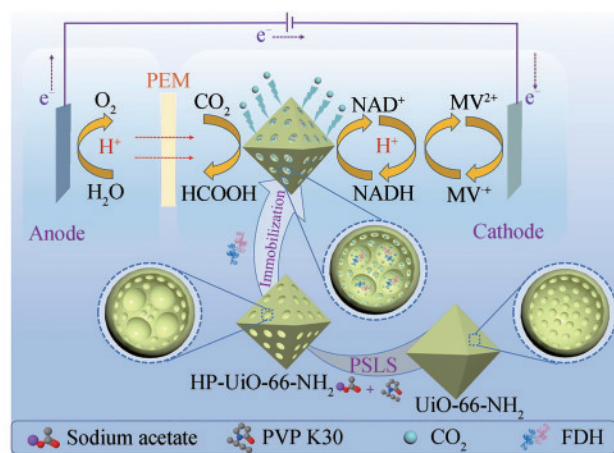
固定在聚苯乙烯纳米纤维上使得酶电极在 20 d 后仍保持 40% 的活性，通过固定化进一步提高了 *Cb*FDH 的稳定性。一般来说，将酶固定在电极材料上有助于提高其稳定性，从而延长高酶电极的工作时间。另外， $\text{CO}_2$  在常温常压下溶解性较低，这也是限制  $\text{CO}_2$  转化效率的因素之一，鉴于此，Jiang 等分别以过聚乙烯亚胺 (PEI)<sup>[57]</sup>、多级次孔状 HP-UiO-66-NH<sub>2</sub> [图 3 (b)]<sup>[58]</sup> 和纳米 ZIF-8@FDH@SNF [图 3(a)]<sup>[59]</sup> 固定 *Cb*FDH，这些材料不仅对酶保护作用，还对  $\text{CO}_2$  有一定的吸附能力，通过增加酶周围环境中  $\text{CO}_2$  的浓度而增加  $\text{CO}_2$  的转化效率。

在酶电催化中，酶在电极上的固定构象对酶

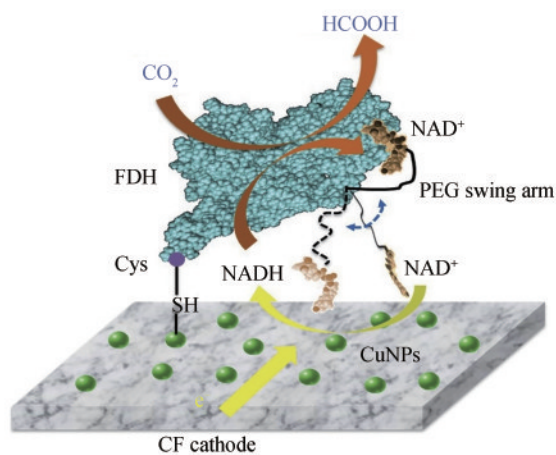
与电极之间的电子传递效率、酶与辅因子以及底物的结合具有重要影响。通过酶在电极上的定向固定能较为理性地增强酶与电极之间的电子传递效率。Song 等<sup>[60]</sup> 将 *Ts*FDH 的 262 位谷氨酸突变为半胱氨酸，使得酶与碳毡电极上沉积的铜纳米颗粒 (CuNPs) 能够通过 Cu-S 键共价结合，实现了 *Ts*FDH 在电极上的定向固定 [图 3(c)]。在此基础上，作者还通过高分子摆臂来固定辅因子 NADH，有效提升了  $\text{CO}_2$  还原效率，甲酸产量达 8.5 mmol/L，生产速率为 11.8  $\mu\text{mol}/(\text{mU}\cdot\text{h})$ <sup>[60]</sup>。此外，Reginald 等<sup>[61]</sup> 通过将 *Cm*FDH 与金结合的小肽 (gbp) 进行融合表达，提高了 *Cm*FDH 与金电极的结合力，并且 N 端融合表达对酶的比活力没有影响，为 FDH



(a) ZIF-8@FDH@SNF 富集  $\text{CO}_2$ <sup>[59]</sup>  
(a)  $\text{CO}_2$  enrichment with ZIF@FDH@SNF construction<sup>[59]</sup>



(b) 利用 HP-UiO-66-NH<sub>2</sub> 固定酶并富集  $\text{CO}_2$ <sup>[58]</sup>  
(b) FDH immobilization with HP-UiO-66-NH<sub>2</sub><sup>[58]</sup>



(c) 酶分子定向固定<sup>[60]</sup>  
(c) FDH oriented immobilization<sup>[60]</sup>

图 3 非金属依赖型 FDH 电催化体系构建策略

Fig. 3 Strategies in constructing metal-free FDH bioelectrochemistry system

在电极上的固定提供了一种新思路。在酶电催化中, 尽管电极能循环再生 NADH, 使反应体系简化, 但研究表明 NADH 的循环次数是有限制的。Barin 等<sup>[62]</sup>发现在 *Cb*FDH 电催化中途更换含有新加入 NAD<sup>+</sup>的电解液, 体系产甲酸的总量比一锅法高 2 倍。这主要是因为电催化条件下, NAD<sup>+</sup>易形成无活性的二聚体形式, 导致反应中有活性的 NAD<sup>+</sup>量随着反应的进行而降低<sup>[63-64]</sup>。因此, 寻找替代辅因子 NADH 的电子中介体, 如甲基紫精 (MV<sup>2+</sup>)、1,1'-二羧甲基-4,4'-联吡啶溴 (DC<sup>+</sup>) 等, 或开发性质稳定、成本低廉的人工辅因子等, 可

能为非金属依赖型 FDH 电催化 CO<sub>2</sub> 还原提供新的解决方案<sup>[65]</sup>。部分甲酸脱氢酶电催化 CO<sub>2</sub> 还原情况总结于表 2。

### 1.1.2 金属依赖型甲酸脱氢酶

金属依赖型 FDH 是指以钼/钨双蝶呤鸟嘌呤二核苷酸作为活性中心的一类 FDH, 金属中心通常含有钼 (molybdenum, Mo) 或钨 (tungsten, W) 原子, 钼/钨原子由两个蝶呤鸟嘌呤二核苷酸以配位键固定<sup>[79]</sup>。金属依赖型 FDH 结构多样, 包括: 单体蛋白, 如大肠杆菌来源的 FDH-H (*E. coli* formate dehydrogenase H) [图 4(a)]<sup>[80]</sup>; 异源二聚

表 2 甲酸脱氢酶电催化 CO<sub>2</sub> 还原

Table 2 FDH electrocatalyzes carbon dioxide reduction

酶 Enzymes	阴极材料 Cathode material	电势 Potential (V vs SHE)	电流密度 Current density ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	产率 Productivity	产物 Product	参考文献 References
<i>Po</i> FDH	p-type indium phosphide	-0.51	n.d.	1.5 <sup>①</sup>	Formate	[51]
<i>Cb</i> FDH	Cu foil	-0.8	n.d.	2.1 $\times 10^{-3}$ <sup>②</sup>	Formate	[52]
<i>Cb</i> FDH	Cu nanocrystals	-0.8	n.d.	6.8 $\times 10^{-3}$ <sup>②</sup>	Formate	[53]
<i>Cb</i> FDH	Plain graphite rod	-0.8	-3.09	0.15 <sup>②</sup>	Formate	[54]
<i>Cb</i> FDH	Graphite	-0.8	-0.20	28.9 <sup>②</sup>	Formate	[55]
<i>Cb</i> FDH	Copper foam	-0.9	n.d.	3.6 <sup>①</sup>	Formate	[56]
<i>Cb</i> FDH	PEI@SBA-15	-0.51	n.d.	88.7 <sup>②</sup>	Formate	[57]
<i>Cb</i> FDH	UiO-66-NH <sub>2</sub>	-0.51	n.d.	101 <sup>②</sup>	Formate	[58]
<i>Cb</i> FDH	ZIF-8	-0.51	n.d.	76 <sup>②</sup>	Formate	[59]
<i>Ts</i> FDH	Cu nanoparticles	-0.81	n.d.	3.6 <sup>②</sup>	Formate	[60]
<i>Cm</i> FDH	Screen-printed gold	-0.81	-35	n.d. <sup>③</sup>	Formate	[61]
<i>Cb</i> FDH	Carbon felt	-0.81	n.d.	0.02 <sup>①</sup>	Formate	[62]
<i>Da</i> FDH	Pyrolytic graphite disk	-0.5	-0.1	n.d. <sup>③</sup>	Formate	[66]
<i>Sf</i> FDH	Pyrolytic graphite	-0.6	-80	n.d.	Formate	[67]
<i>Dv</i> FDH	Gold or graphite electrodes	-0.66	-300	0.21 <sup>①</sup>	Formate	[68]
<i>Dv</i> FDH	Gold disk electrode	-0.6	-14.4	n.d.	Formate	[69]
<i>Cf</i> FDH	Polyaniline (PANi) hydrogel	-0.6	-3.02	1.42 <sup>①</sup>	Formate	[70]
<i>Me</i> -FoFDH	Glassy carbon	-0.54	-20 000	6 <sup>①</sup>	Formate	[71]
<i>Dv</i> FDH	P(SS-GMA-BA)	-0.59	-533	0.05 <sup>①</sup>	Formate	[71]
<i>Cf</i> FDH	Pyrolytic graphite electrode	-0.8	-1200	981 <sup>②</sup>	Formate	[72]
<i>Dv</i> FDH	IO-TiO <sub>2</sub> electrode	n.d.	-99	0.185 <sup>①</sup>	Formate	[73]
<i>Dv</i> FDH	(ITO)/TiO <sub>2</sub>	-0.6	-100	0.102 <sup>①</sup>	Formate	[74]
<i>Dv</i> FDH	Perovskite/ITO-TiO <sub>2</sub>	-0.47	-4.75	77.3 <sup>①</sup>	Formate	[75]
<i>Dv</i> FDH	TiO <sub>2</sub>	n.d.	n.d.	2.7 $\times 10^{-5}$ <sup>②</sup>	Formate	[76]
<i>Cc</i> FDH, <i>Fald</i> DH, ADH	Cobalt phosphate/ $\alpha$ -Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	-0.6	-480	0.021 <sup>②</sup>	Methanol	[77]
<i>Cb</i> FDH, <i>Fald</i> DH, ADH	ZIF-8 nanocrystals	-0.5	-400	0.013 <sup>①</sup>	Methanol	[78]

①单位为  $\mu\text{mol}/(\text{cm}\cdot\text{h})$ 。

②单位为  $\mu\text{mol}/(\text{min}\cdot\text{mg})$ 。

③n.d. 表示未检测。

体蛋白，如脱硫弧菌 (*Desulfovibrio vulgaris*) 来源的 *Dv*FDH [图4(b)]<sup>[39]</sup>；多聚体蛋白，如莱膜红杆菌 (*Rhodobacter capsulatus*) 来源的 *Rc*FDH [图4(c)]<sup>[81]</sup>。特别地，一些FDH可以通过铁氧还原蛋白与氢酶形成酶复合体，催化甲酸、氢气与  $\text{CO}_2$  之间的相互转化，例如大肠杆菌中的甲酸氢裂解酶 (formate hydrogenlyase, FHL) 复合物 [图4(d)]<sup>[82]</sup> 以及来源于 *Acetobacterium woodii*<sup>[48]</sup>、

*Thermoanaerobacter kivui*<sup>[40, 83]</sup> 的氢依赖型  $\text{CO}_2$  还原酶 (hydrogen-dependent carbon dioxide reductase, HDCR) [图4(e)]。

在金属依赖型FDH的催化过程中，Mo/W原子在氧化态 ( $\text{Mo}^{6+}$ )/( $\text{W}^{6+}$ ) 和还原态 ( $\text{Mo}^{4+}$ )/( $\text{W}^{4+}$ ) 之间进行电子转移，同时金属依赖型FDH一般含有铁硫簇 ([4Fe-4S] 或 [2Fe-2S]) 等电子传递结构，用于在金属中心及另一电子供体/受体间高效传

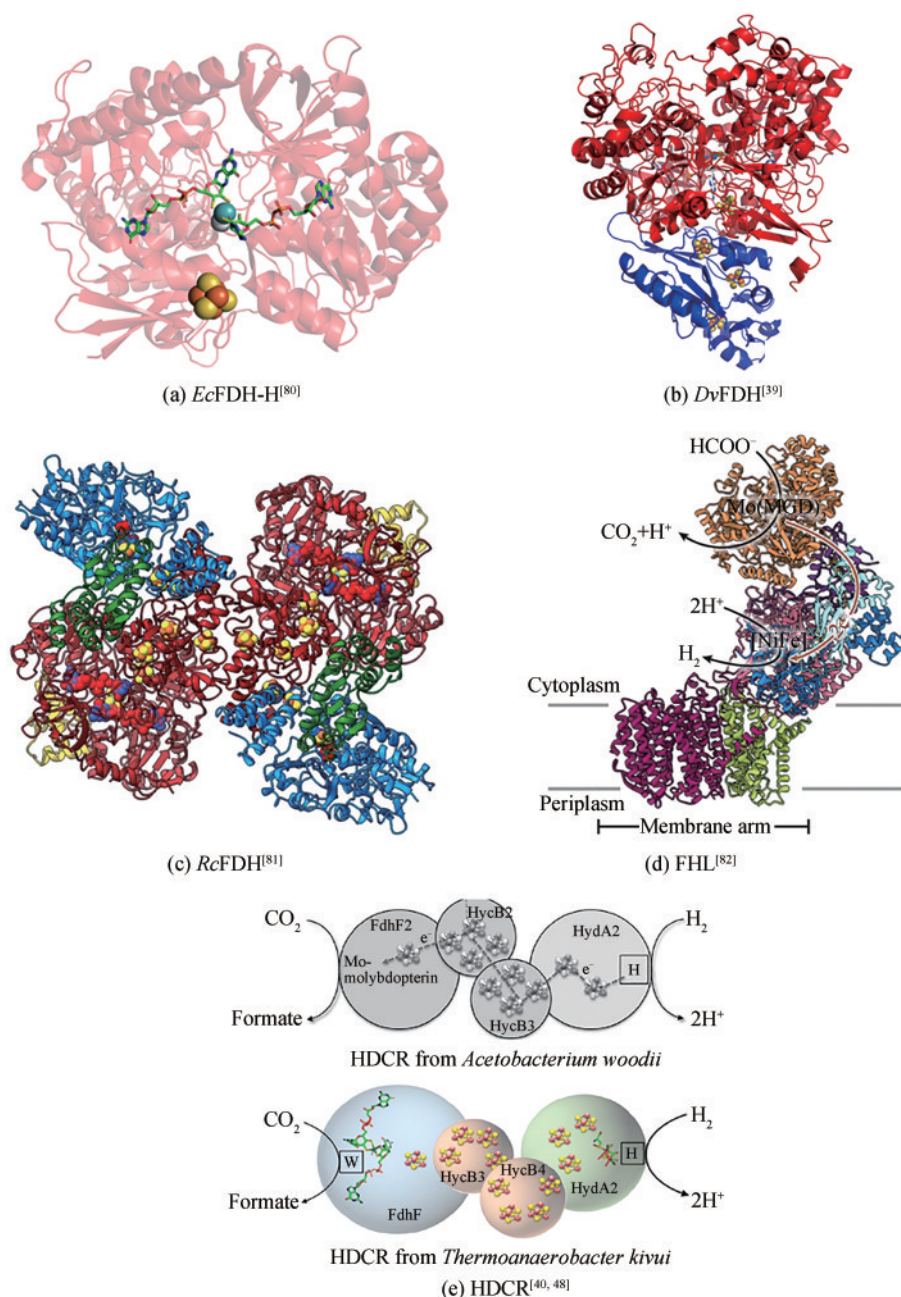


图4 不同来源的金属依赖的甲酸脱氢酶的结构模型

Fig. 4 Structural models of metal-dependent formate dehydrogenases from different sources

递电子。以来源于 *Escherichia coli* 的 Mo 依赖型 FDH-H 为例，其活性中心区域的 Mo 原子由 2 个钼蝶呤鸟嘌呤二核苷酸 (molybdopterin guanine dinucleotide, MGD) 的 4 个顺式二噻吩硫键和 1 个硒代半胱氨酸 (Se-Cys140) 通过配位键结合，2 个钼蝶呤鸟嘌呤二核苷酸通过形成大量氢键、盐桥和范德华力紧密结合在脱氢酶内部，稳定 Mo 中心，同时，活性区域中还存在 1 个 [4Fe-4S] 中心。在甲酸氧化过程中，甲酸盐首先取代 Se-Cys140 与钼原子 ( $\text{Mo}^{6+}$ ) 结合，Se-Cys140 与 Arg333 形成游离硒醇；甲酸盐中的质子转移到 His141 上，Se-Cys140 与甲酸分子结合形成硒羧基化中间体并随释放  $\text{CO}_2$  分子，2 个电子转移到钼原子 ( $\text{Mo}^{4+}$ )；最后，钼原子的电子通过钼蝶呤鸟嘌呤二核苷酸的部分共轭体系借由 Lys 传递到铁硫簇 [4Fe-4S]，铁硫簇 [4Fe-4S] 再将电子转移到外部电子受体如甲基紫精/苜基紫精，

完成催化循环。铁硫簇 [4Fe-4S] 可以从钼原子 ( $\text{Mo}^{5+}$ ) 接受第 2 个电子并恢复到初始状态 (图 5)<sup>[80]</sup>。

与非金属依赖型 FDH 相比，金属依赖型 FDH 不需要昂贵的 NADH 作为辅因子，而且催化  $\text{CO}_2$  的活性更高 (见表 1)，这主要得益于其比  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  ( $-320 \text{ mV vs SHE}$ ) 更低的还原电势 ( $-410 \text{ mV vs SHE}$ ) 及多中心电子传递链<sup>[84]</sup>，因此，金属依赖型 FDH 被认为在构建酶电催化  $\text{CO}_2$  还原体系方面更具优势。一些研究已经在固定金属依赖型 FDH 到电极上方面取得了进展。例如，Cordas 等<sup>[66]</sup> 将 *Dd*FDH 固定到热解石墨盘电极上，并成功检测到  $\text{CO}_2$  还原电流，实现了电子在电极-酶活性中心-底物  $\text{CO}_2$  之间的直接传递。Reda 等<sup>[67]</sup> 将 *Sj*FDH 固定到热解石墨电极上，在  $-0.6 \text{ vs SHE}$  电压下还原  $\text{CO}_2$  电流密度达  $80 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ 。酶的活性中心通常深埋在蛋白分子内部，而由铁硫簇形成

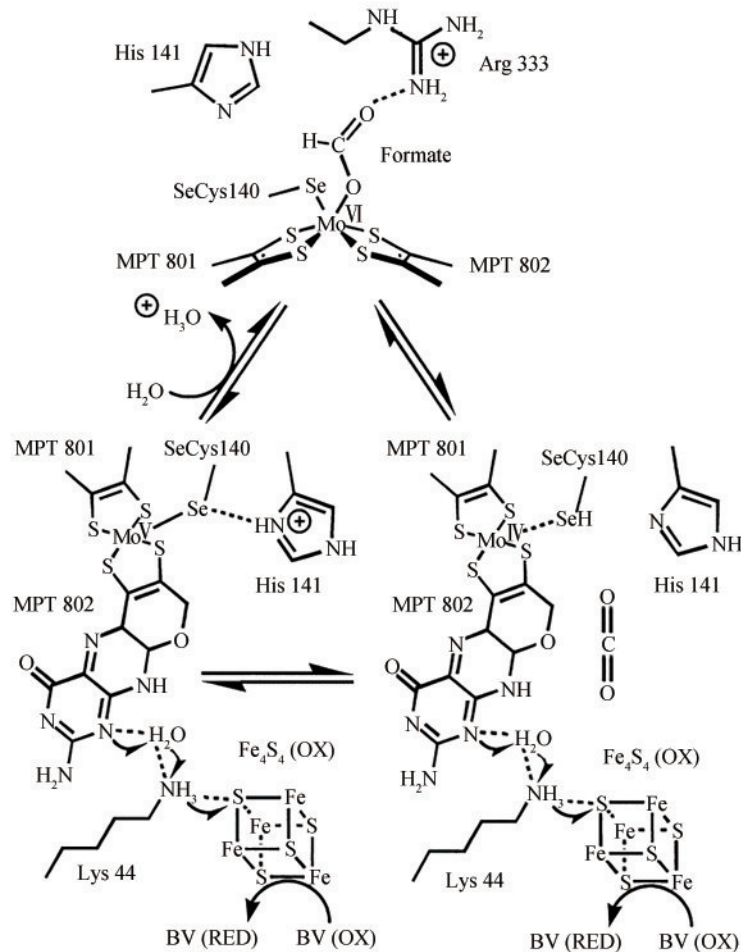
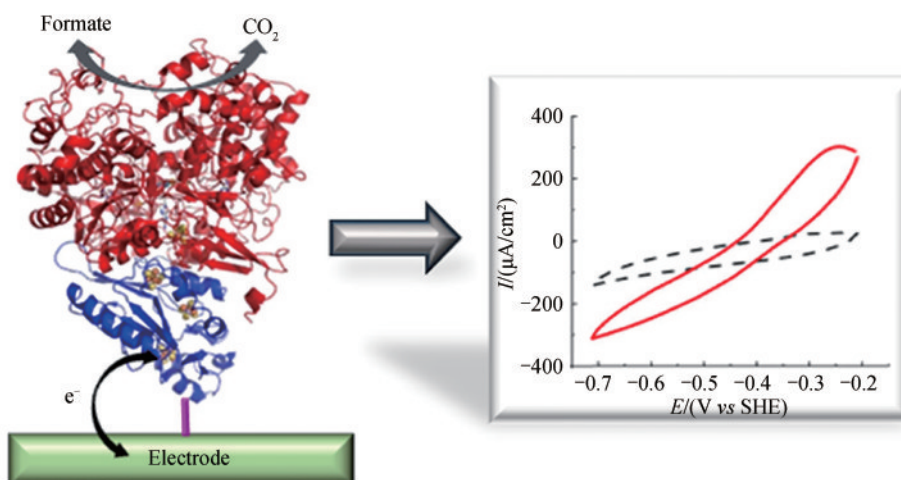


图 5 *Ec*FDH-H 的催化机制<sup>[80]</sup>

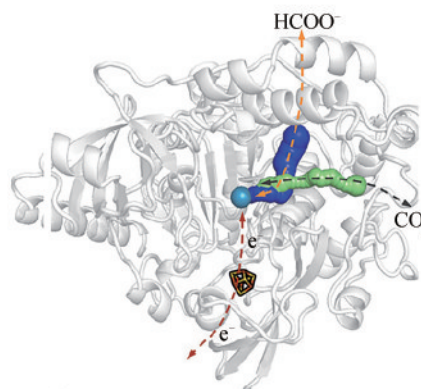
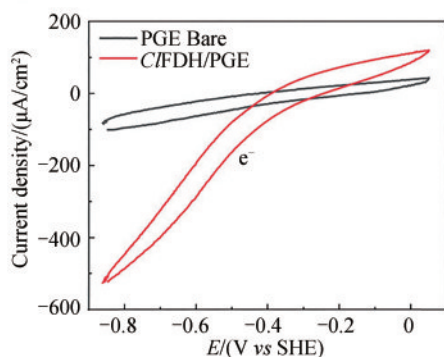
Fig. 5 Catalytic mechanism of *Ec*FDH-H<sup>[80]</sup>

的电子传递链是唯一高效的电子传递路径，因此将FDH中起电子传递作用的蛋白定向固定在电极表面是提高电极和酶分子之间直接电子传递效率的有效方式。例如，Alvarez-Malmagro等<sup>[68]</sup>以4-

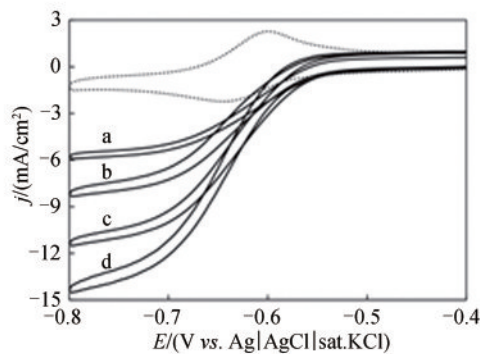
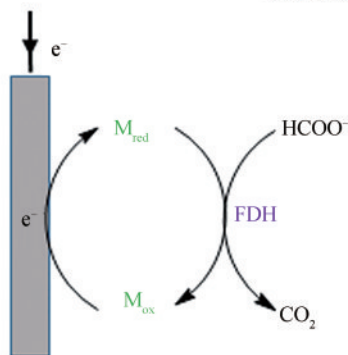
氨基苯修饰金电极，利用电极上的氨基与DvFDH上的羧基形成共价连接，构建了电催化CO<sub>2</sub>还原体系[图6(a)]，在-0.66 V下电流密度达200 μA/cm<sup>2</sup>，法拉第产率接近100%<sup>[69]</sup>。此外，利用酶分子与电极



(a) 二亚基DvFDH电催化<sup>[69]</sup>  
(a) Bioelectrocatalysis at DvFDH electrode<sup>[69]</sup>



(b) 单亚基C/FDH电催化<sup>[72]</sup>  
(b) Bioelectrocatalysis at C/FDH electrode<sup>[72]</sup>



(c) MeFDH由电子中介体介导的间接电催化<sup>[71]</sup>  
(c) Mediated-bioelectrocatalysis of MeFDH<sup>[71]</sup>

图6 金属依赖FDH电催化体系构建策略

Fig. 6 Construction strategy of metal-dependent FDH electrocatalytic system

形成的静电或氢键相互作用等也是定向固定酶的有效策略。应该注意到, 尽管按上述方法对酶分子进行了定向固定, 但在有电子中介体存在时的电流密度仍比没有电子中介体更高<sup>[68-69]</sup>, 说明仍有部分酶在电极上的固定是无序的, 而且酶与电极之间较远的距离也是限制电子传递效率的关键因素。Kuk等<sup>[70]</sup>利用导电水凝胶多孔隙的性质固定C/FDH, 带电的水凝胶不仅在三维空间起到固定酶的作用, 而且还能给周围的C/FDH快速传递电子, 实现CO<sub>2</sub>的高效还原, 电流密度达3.02 mA/cm<sup>2</sup>, 产甲酸的速率达1.42 μmol/(h·cm<sup>2</sup>)。与此前研究集中在酶金属活性中心不同, 近期, Li等<sup>[72]</sup>首次揭示了[4Fe-4S]簇在C/FDH电催化CO<sub>2</sub>还原中的影响[图6(b)]。体系中涉及固-液-气三相之间的反应, 因此除了电子传递效率外, 传质效率也是影响体系性能的重要因素, 特别是CO<sub>2</sub>在溶液中的传质效率和溶解度是关键的限制因素。气体扩散电极已被开发出用于H<sub>2</sub>、O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>等气体高效还原, 能有效地解决CO<sub>2</sub>等气体在溶液中传质效率低的问题。例如, Sakai等<sup>[71]</sup>利用Ketjen Black (KB)修饰的气体扩散电极和来源于*Methylobacterium extorquens*的MeFDH构建了CO<sub>2</sub>还原体系[图6(c)], 还原电流高达20 mA/cm<sup>2</sup>, 产甲酸的速率达6 μmol/(h·cm<sup>2</sup>)。此外DvFDH<sup>[85]</sup>被固定到气体扩散电极上催化CO<sub>2</sub>还原的电流密度达533 μA/cm<sup>2</sup>。除了采用气体扩散电极外, 通过在体系中加入可逆催化碳酸氢根和CO<sub>2</sub>转化的羧化酶也能保证足够的CO<sub>2</sub>浓度用作FDH的底物<sup>[86]</sup>。

在低碳可持续发展的趋势下, 氢能、太阳能等可再生清洁能源将逐步替代化石能源, 利用氢能及光能驱动CO<sub>2</sub>还原将使碳固定技术更加清洁、可持续。例如, Adachi等<sup>[87]</sup>以[Ni-Fe]-氢酶和Me-FoFDH构建了氢驱动的CO<sub>2</sub>电还原体系, 该体系不需要额外的能量输入, 其中[Ni-Fe]-氢酶作为阳极催化剂, 将氢气氧化产生的电子转移到阴极供给FDH催化的CO<sub>2</sub>还原反应。Sokol等<sup>[73]</sup>通过光合系统II的光解水反应与DvFDH建立人工光合固碳系统, 光电流密度达99 μA/cm<sup>2</sup>, 甲酸产率约为0.185 μmol/(h·cm<sup>2</sup>)。除了光合系统外, 一些非生物半导体材料如TiO<sub>2</sub><sup>[74-76]</sup>、石墨氮化碳(g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>)<sup>[88]</sup>、无定形碳(a-CDs)<sup>[89]</sup>等也被用于构建

半人工光合体系催化CO<sub>2</sub>还原。

金属依赖型FDH因其较高的催化活性以及不依赖昂贵NADH辅因子成为还原CO<sub>2</sub>的优选催化剂, 但这类酶通常对氧气敏感、含有硒代半胱氨酸, 导致酶获取困难且成本较高, 限制了其使用。因此建立这类酶的过表达体系将成为实际使用过程中有待解决的问题。此外, 在构建酶电催化体系过程中酶与电极电子传递效率是影响体系性能的关键因素, 酶与电极之间的电子传递机制还需进一步揭示和探究, 并需开发有效的方法和工具实现酶在电极上的定向固定, 从而提高酶与电极之间的电子传递效率。

### 1.1.3 多酶级联

甲酸脱氢酶电催化系统可以体外串联多种氧化还原酶构建体外多酶级联电催化体系, 电催化CO<sub>2</sub>还原产生的甲酸可以被用作其他以甲酸为底物酶电催化体系的原料, 从而实现CO<sub>2</sub>到其他有机小分子的转化。例如, Schlager等<sup>[90]</sup>将甲酸脱氢酶(FDH)、甲醛脱氢酶(F<sub>al</sub>DH)和醇脱氢酶(ADH)包埋在海藻酸盐-硅酸盐杂化的凝胶中, 三种脱氢酶直接利用电极提供的电子催化将CO<sub>2</sub>还原为甲酸, 然后进一步将甲酸还原为甲醛, 最终再还原成甲醇, 在1.2 V电压下, 经过4 h催化反应, 产生0.15 μl/L甲醇, 法拉第效率为10%。Seelajaroen等<sup>[91]</sup>则将上述3种酶修饰到石墨烯羧酸电极上, 通过石墨烯电极与3种脱氢酶的直接传递电子, 实现了从CO<sub>2</sub>到甲醇的酶电催化级联, 甲醇的产率约为0.6 μmol/h, 法拉第效率为12%。应当指出, 尽管体外多酶级联催化拓展了CO<sub>2</sub>转化的产物范围, 但仍然面临一些限制其催化效率的问题。例如, 电极与酶之间的电子传递效率较低, 体系中各种酶的催化条件不同, 中间产物可能会抑制酶的活性等, 因此仍需在新型修饰材料的开发、高效氧化还原酶的挖掘设计改造、多酶级联体系动力学优化等方面进行深入研究<sup>[92]</sup>。

## 1.2 一氧化碳脱氢酶电催化

一氧化碳脱氢酶(CODH)是部分细菌和古细菌在长期演变中进化出的一种氧化还原酶, 可以催化CO/CO<sub>2</sub>的可逆转化。目前发现的CODH均为

金属依赖型脱氢酶，根据其对氧气的敏感性可以分为耐氧型 CODH 和厌氧型 CODH 两大类<sup>[93]</sup>。耐氧型 CODH 一般具有铜-钼催化活性中心，其生理学功能主要是氧化 CO，基本没有催化 CO<sub>2</sub> 还原活性，在此不做进一步讨论。厌氧型 CODH 广泛存在于一些厌氧细菌和古生菌中，其重要的生理学功能之一即为参与此类菌的 Wood-Ljungdahl 厌氧代谢途径。不同来源的厌氧型 CODH 在结构单元上略有差异，部分 CODH 仅具有催化 CO<sub>2</sub>/CO 转化的功能，一般含 5 个金属簇，另一部分 CODH 常与乙酰辅酶 A 合成酶 (acetyl-CoA synthase, ACS) 紧密结合形成酶复合体，用于微生物 WL 代谢途径中乙酰辅酶 A 的合成。厌氧型 CODH 的活性中心由特殊的镍-铁硫簇 [Ni-3Fe-4S] 和一个铁离子组成，因此又叫 [NiFe] CODH。以 *Carboxydothemus hydrogenoformans* 的 ChCODH 为例 [图 7(a)]，其 [Ni-3Fe-4S] 活性中心的 3 个铁原子由 Cys333/Cys446/Cys476 稳定，镍原子与 Cys526 形成配位键，游离的铁由 Cys295、H261 和镍-铁硫簇硫原子稳定<sup>[94]</sup>。[NiFe]-CODH 的催化机制被广泛研究，目前无确切定论，但光谱学表征至少观察到活性中心的 3 种状态：完全氧化态 (C<sub>ox</sub>)，单电子还原态 (C<sub>red1</sub>) 和两电子还原态 (C<sub>red2</sub>)。因此，也可大致总结为双电子转移机制。如图 7(b) 所示，在 CO 氧化的反应进程中，CO 的 C 原子先与 Ni 原子结合，

形成类氰化物 Ni-C≡O，类氰化物 Ni-C≡O 的 C 原子亲核攻击与游离铁结合的羟基形成羧酸盐结构，2 个电子由羧酸碳转移到镍-铁硫簇 [Ni-3Fe-4S] 簇上，CO<sub>2</sub> 释放，随后镍-铁硫簇 [Ni-3Fe-4S] 的电子通过电子传递链传递到电子受体完成催化循环；反之，CO<sub>2</sub> 还原反应亦然<sup>[95]</sup>。

CODH 无论是从电子传递还是电催化效率方面，均优于部分甲酸脱氢酶，这可能与 CODH 的多金属簇结构有关。早在 2003 年，Shin 等<sup>[96]</sup> 就发现来自 *Moorella thermoacetica* 的 CODH 在甲基紫晶的介导下，能高效催化 CO<sub>2</sub> 还原，CO 为唯一产物，电流效率接近 100%，转化数在最初的 3 h 为 700 h<sup>-1</sup>。CODH 电催化 CO<sub>2</sub> 还原的另一优势在于其极低的过电势 (<100 mV)，而直接电化学还原 CO<sub>2</sub> 一般需要 1~2 V 的过电势。随后，Fraser A. Armstrong 课题组<sup>[97-98]</sup> 报道了来自 *Carboxydothemus hydrogenoformans* 的 CODH I 可在热解石墨电极的“棱”面催化 CO<sub>2</sub> 与 CO 的相互转化，并发现 CO、氰酸根是 CO<sub>2</sub> 还原的抑制剂，CO 属于产物抑制，氰酸盐通过结合 C<sub>red2</sub> 中间态抑制；氰根、硫化氢是 CO 氧化的抑制剂。2021 年，Alan Le Goff 等<sup>[95]</sup> 通过大肠杆菌异源表达获取了来自 *Rhodospirillum rubrum* 的 CODH，该酶催化 CO 氧化活性达 26 500 U/mg，是目前报道的活性最高的 CODH。该酶在电极上催化 CO 氧化的  $k_{cat}$  为 150 s<sup>-1</sup>，催化

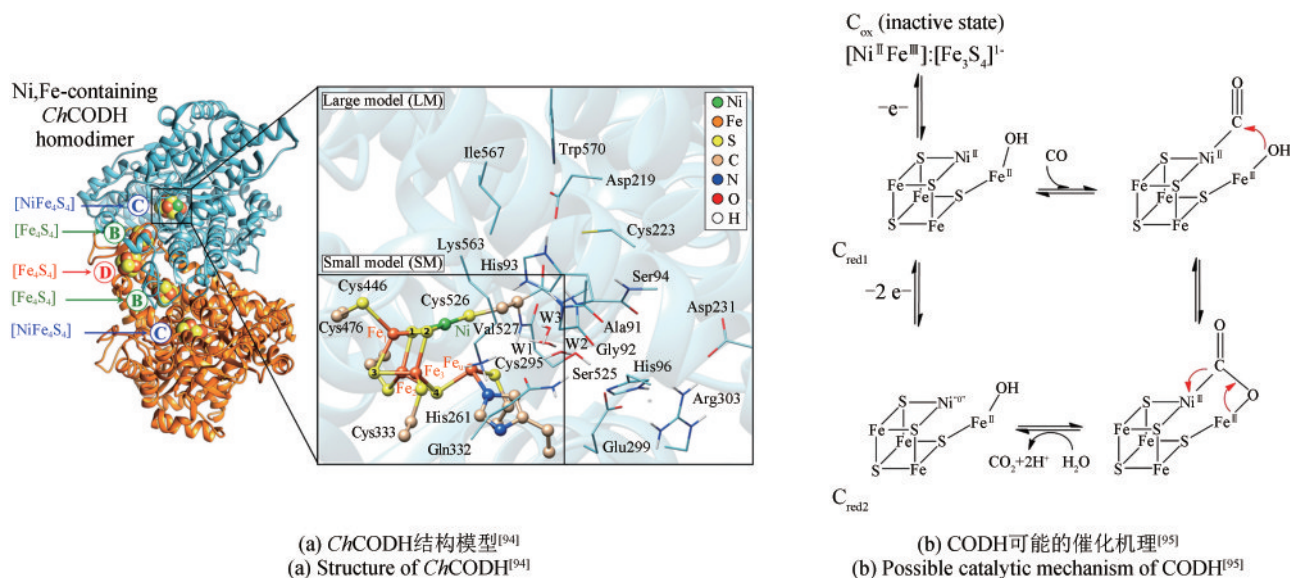


图7 *ChCODH* 的结构和 CODH 的催化机理

Fig. 7 Structure of *ChCODH* and catalytic mechanism of CODH

CO<sub>2</sub>还原的 $k_{cat}$ 为420 s<sup>-1</sup>，已接近目前电化学催化剂反应速率，且能稳定工作数小时（图8）。CODH的电催化研究相比于甲酸脱氢酶较少，一方面是因为[NiFe] CODH严格厌氧，对电催化条件要求苛刻；另一方面，CO的安全性限制了其广泛研究。CO<sub>2</sub>的生物转化可适配高效的CO利用模块，为CODH的电催化研究创造了新的机会。

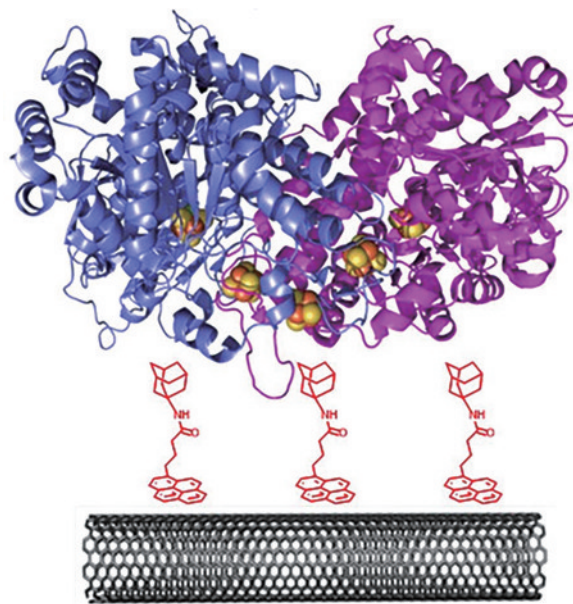
### 1.3 改性固氮酶电催化

天然固氮酶可催化N<sub>2</sub>还原成NH<sub>3</sub>，但部分固氮酶通过改造后可催化CO<sub>2</sub>生成CO、甲酸、甲烷、乙烷、丙烷、乙烯、丙烯等有机小分子<sup>[99-100]</sup>，产物种类取决于不同类型的固氮酶或其突变体<sup>[101]</sup>。以钼-铁固氮酶为例，当催化CO<sub>2</sub>还原时，钼-铁硫簇[Mo-7Fe-9S-C]活性中心的钼原子与CO<sub>2</sub>的碳原子配对，电子由钼-铁硫簇传递到CO<sub>2</sub>进行还原催化。底物的形成与活性中心及附近氨基酸残基形成的空间结构相关。

固氮酶在酶电催化体系中有应用。一般来

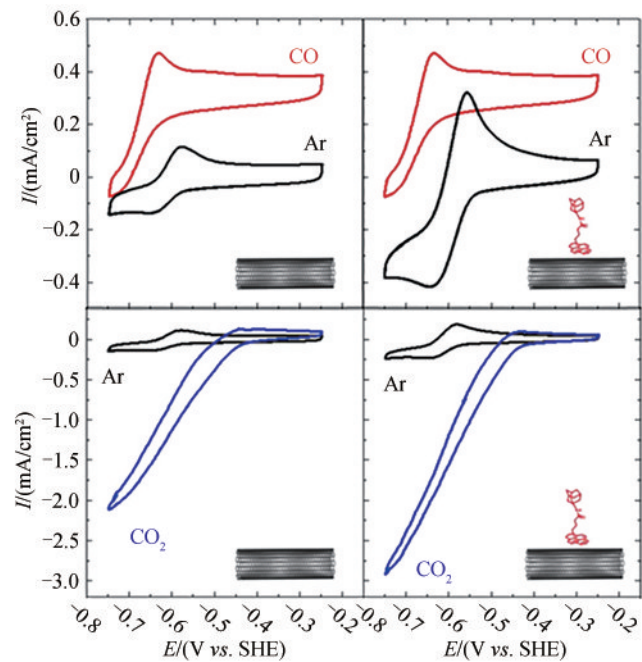
说，钼-铁固氮酶主要由催化亚基NiFDK和还原亚基NifH组成，催化亚基NiFDK包含一种特殊的钼-铁硫簇[Mo-7Fe-9S-C]（又称M簇）以及铁硫簇[8Fe-7S]（又称P簇）。在体内还原亚基NifH水解ATP的高能磷酸键产生电子并传递到催化亚基NiFDK的P簇和金属活性中心<sup>[102]</sup>。而在体外电催化实验中，单独的催化亚基NiFDK也能利用P簇从电极接收电子，完成催化反应。钒-铁固氮酶在钨(II)DTPA构成的缓冲液体系中能够直接利用电子催化CO<sub>2</sub>生成甲烷(CH<sub>4</sub>)<sup>[103]</sup>。除直接电子传递外，由二茂钴为电子介体的间接电子传递也有报道。钼-铁固氮酶和铁-铁固氮酶在以苊稳定溶液修饰的电极上能以二茂钴介导的电子转移驱动CO<sub>2</sub>还原合成甲酸<sup>[104]</sup>。钒-铁固氮酶依靠修饰二茂钴传递的电子可以还原CO<sub>2</sub>生成为乙烯(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)和丙烯(C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>)等碳原子数大于2的碳氢化合物（图9）<sup>[105]</sup>。

上述三种固碳酶均为氧化还原酶，已经被广泛用于酶电催化CO<sub>2</sub>还原。除此之外，固碳酶还包括羧化酶。羧化酶利用酶的活性结构域通过消耗ATP或/和还原力来引入或脱离CO<sub>2</sub>分子，因此可



(a) *Rr*CODH电催化示意图

(a) Scheme of *Rr*CODH bioelectrocatalysis

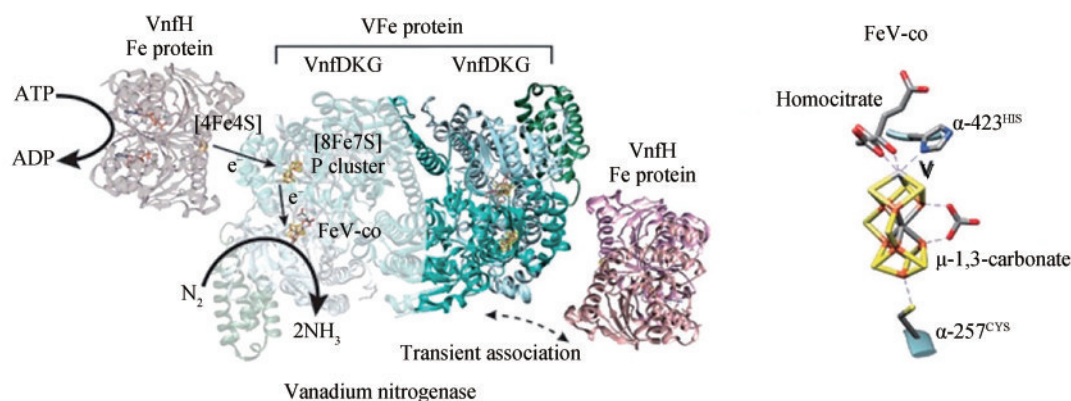


(b) *Rr*CODH可逆电催化CO<sub>2</sub>/CO转化

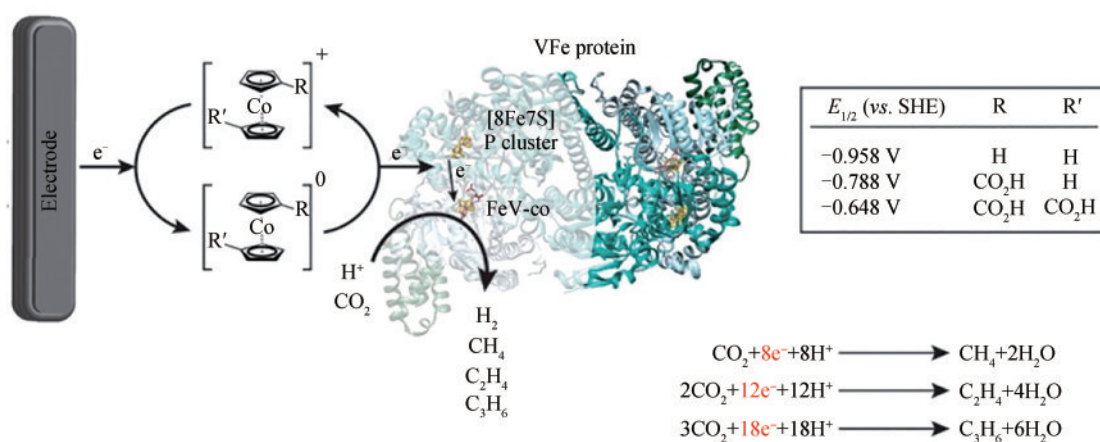
(b) The reversible interconversion of CO<sub>2</sub> and CO electrocatalyzed by *Rr*CODH

图8 *Rr*CODH电催化体系<sup>[95]</sup>

Fig. 8 *Rr*CODH electrocatalytic system<sup>[95]</sup>



(a) 来源于 *Azotobacter vinelandii* 的固氮酶的晶体结构  
(a) Crystal structure of nitrogenase from *Azotobacter vinelandii*



(b) 改性的固氮酶的生物电催化CO<sub>2</sub>还原<sup>[105]</sup>  
(b) Bioelectrocatalysis of engineering nitrogenase for CO<sub>2</sub> reduction<sup>[105]</sup>

图9 固氮酶的结构和改性固氮酶的电催化体系

Fig. 9 Structure of nitrogenase and electrocatalytic system of engineering nitrogenase

以可逆地催化羧化和脱羧两个过程<sup>[106]</sup>。羧化酶具有多种来源，例如，中心代谢途径和代谢旁路、植物的卡尔文循环、微生物次级代谢途径或特殊代谢等。从酶分类角度来看，羧化酶主要分为氧化还原酶类和裂合酶类<sup>[107]</sup>。氧化还原类羧化酶通常是生物代谢途径中利用还原力（NADH、NADPH）或涉及电子传递反应的酶，通过电子传递来还原CO<sub>2</sub>。裂合酶类和连接酶则常利用生物键能，如高能磷酸键中能量，将CO<sub>2</sub>以羧基的形式加到其他化合物中（常见的有乙酰辅酶A等）。尽管一些羧化酶属于氧化还原酶类，但关于羧化酶的电催化报道较少，这可能是因为该类羧化酶结构复杂，其底物通常需要辅因子的活化，如乙酰辅酶A、丙酰辅酶A等，且这种活化形式的底物生

物/化学合成的成本较高，从而限制了此类羧化酶在体外电催化合成中的应用。

## 2 微生物电合成固定CO<sub>2</sub>

微生物电合成（microbial electrosynthesis, MES）可通过微生物从电极获取电子进行生物合成，在CO<sub>2</sub>转化利用方面有广泛用途，特别是合成有机酸、醇类等高附加值化学品（图10）<sup>[108-109]</sup>。根据体系中接种微生物的不同，微生物电合成可分为混合菌群发酵和纯种发酵两种形式。混合菌群发酵操作简单且不需要过多考虑反应体系的洁净度，因此更加经济，是微生物电合成最早发展

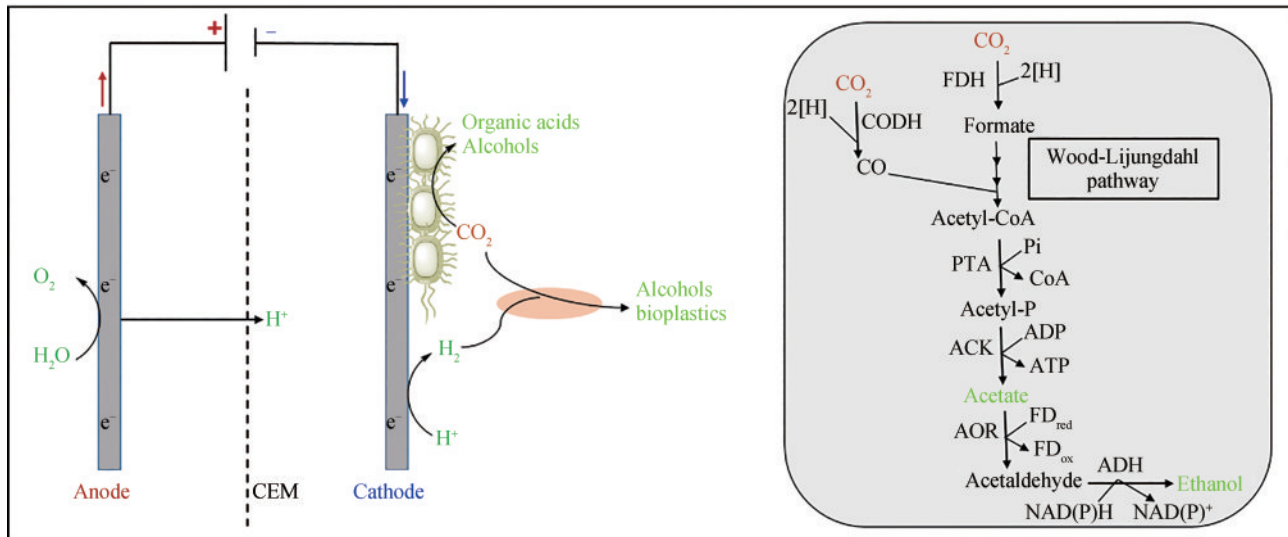


图10 从CO<sub>2</sub>合成生物制品的MES示意图

Fig. 10 Schematic representation of MES for biocommodities synthesis from carbon dioxide

的技术。然而，混合菌群发酵的产物选择性较低，产物也较难分离纯化，而纯种发酵在产物选择性方面具有优势<sup>[108]</sup>，并可通过代谢工程等技术进行调控。此外，微生物和电极之间电子传递机制等研究也只能在单一菌种培养系统中进行研究。该部分将介绍混合菌群发酵和纯种发酵两种形式的微生物电合成研究进展。

## 2.1 混合菌群微生物电合成

### 2.1.1 电合成有机酸

有机酸如乙酸、甲酸、丁酸等是重要的工业化学品，在工业上可用作碳底物。近年来，通过污泥、污水中的微生物菌群利用CO<sub>2</sub>电合成有机酸等化学品备受关注（表3）。

Marshall等<sup>[110]</sup>首次在颗粒石墨电极上利用啤酒废水来源的微生物菌群，以CO<sub>2</sub>为唯一碳源，实现了甲烷、乙酸和氢气的电合成，其中，甲烷为主要产物，乙酸的生产速率仅为4 mmol/(L·d)。产甲烷菌和产乙酸菌通常具有相似的生活生态环境，因此在利用微生物菌群电合成乙酸过程中不可避免地伴随甲烷的产生。使用相同的电极材料，利用来自棕榈酒厂废水池的微生物菌群进行了长达150 d的电合成实验，乙酸的最大生产速率提高至17.25 mmol/(L·d)[1.04 g/(L·d)]，20 d内乙酸的累积量达175 mmol/L。通过微生物组成分析发现，

醋酸杆菌在此微生物菌群中起主导作用<sup>[111]</sup>。因此，提高产乙酸菌在菌群中的比例是提高乙酸产量的有效方法。除了微生物的菌群组成外，电极材料的催化活性及稳定性也是决定产率和产量的重要因素。Flexer等<sup>[113]</sup>报道了在网状玻璃碳上生长柔性的碳纳米管（carbon nano tubes, CNT），形成的多孔三维材料有利于微生物的附着和生物膜的形成，比较研究发现，基于该材料的微生物电合成乙酸的电流密度比以碳板作为电极的电流密度提高了约1.7倍，乙酸生产速率提高了2.6倍。Jourdin等<sup>[115]</sup>将经过多次转移培养和驯化后的产乙酸微生物生菌群与在RVC泡沫上电沉积多壁碳纳米管产生的三维多孔材料EPD-3D相结合，产乙酸的速率高达685 g/(m<sup>2</sup>·d)，达到了工业发酵的生产水平。为了避免析氢反应，在微生物电合成中通常采用中性偏碱性的电解液，然而Labelle等<sup>[116]</sup>报道了将微生物组暴露在酸性（pH 6.5）环境中进行电合成，虽然不出所料地产生氢气，速率为2.6 kg/(m<sup>3</sup>·d)，但产乙酸速率达3.1 kg/(m<sup>3</sup>·d)，产甲酸速率达0.7 kg/(m<sup>3</sup>·d)，为微生物电合成氢燃料和有机酸提供新思路。在实际生产过程中排放的CO<sub>2</sub>通常伴随高温余热，普通微生物难以生存，为此，Rovia-Alsina等<sup>[119]</sup>利用厌氧污泥中的微生物菌群，在50 °C下进行微生物电合成，经过150 d的持续发酵后，乙酸积累约5.2 g/L，这接近实际生产过程中CO<sub>2</sub>的产生通常伴随高温余热的情况。

表3 微生物电合成的主要产品  
Table 3 The main product of microbial electrosynthesis

产物 Product	微生物 Microorganism	阴极 Cathode	静电位控制 Potentiostatic control /(V vs SHE)	最高产率 Highest production rate /[g(L·d)]	参考文献 References
Acetate	Microbial community	Granular graphite	-0.59	0.24	[110]
	Microbial community	Granular graphite	-0.59	1.04	[111]
	Microbial community	Carbon felt	-1.26	0.06	[112]
	Microbial community	Reticulated vitreous carbon foam	n.d.	0.24	[113]
	Microbial community	VITO-CoRE™	-0.40	0.57	[114]
	Microbial community	EPD-3D	-0.85	0.39	[115]
	Microbial community	Granular graphite	-0.6	3.10	[116]
	Microbial community	Reticulated vitreous carbon foam	n.d.	18.72	[117]
	Microbial community	3D-reticulated vitreous carbon	-1.10	77	[118]
	Microbial community	Carbon cloth	-0.6	0.03	[119]
	<i>Sporomusa ovata</i>	Graphite sticks	-0.6	0.045	[120]
	<i>Sporomusa ovata</i>	rGO-TEPA-modified carbon cloth	-0.69	0.17	[121]
	<i>Sporomusa ovata</i>	3D-graphene/carbon felt	-0.6	0.12	[122]
	<i>Sporomusa ovata</i>	PEDOT: PSS modified carbon cloth	-0.69	0.17	[123]
	<i>Sporomusa ovata</i>	Copper foam coated graphene	-1.0	1.46	[124]
	<i>Sporomusa ovata</i>	Synthetic biofilm by 3D bio-printing	-0.6	0.68	[125]
	<i>Sporomusa ovata</i>	Ni-PHF modified carbon nanotubes	-0.4	0.17	[126]
	<i>Sporomusa ovata</i>	Co-P alloy	-0.54	1.6	[127]
	<i>Clostridium ljungdahlii</i>	Graphite plate	-0.8	0.138	[128]
	<i>Moorella thermoacetica</i>	Carbon cloth	-0.4	0.35	[129]
Butyrate	Microbial community	Carbon cloth	-0.8	0.16	[130]
	Microbial community	Graphite felt	n.d.	0.54	[131]
	Microbial community	Carbon felt	-0.85	3.2	[132]
Caproate	Microbial community	Carbon felt	-0.85	0.95	[132]
Ethanol	Microbial community	VITOCORE® GDE	-0.79	0.42	[23]
	Microbial community	Carbon fiber brushes	-0.46	0.87	[133]
	<i>Clostridium ljungdahlii</i>	Microbial reverse-electrodialysis Electrosynthesis cell	-0.58	0.48	[134]
Methane	Microbial community	Graphite fiber brush	-0.501	0.01 <sup>①</sup>	[135]
	Microbial community	Carbon felt	-0.751	0.13 <sup>①</sup>	[136]
	Microbial community	Titanium mesh	-0.7	0.13 <sup>①</sup>	[137]
	Microbial community	Granular activated carbon and graphite granules	-0.72	0.14 <sup>①</sup>	[138]

①单位为L/d。

自微生物电合成技术发展以来，主要产物是乙酸，对于更长碳链的脂肪酸，如丁酸、己酸等有机酸的生产报道较少，目前仍处于较低水平阶段。Ganigue等<sup>[130]</sup>首次报道了以CO<sub>2</sub>为唯一碳源进行的微生物电合成丁酸实验，其生产速率为1.82 mmol/(L·d)，产率较低，并还伴随乙醇和丁醇的生成。Raes等<sup>[131]</sup>通过提高电流强度(9.3 A/m<sup>2</sup>)

将丁酸的生产速率提高至0.54 g/(L·d)，且无其他醇类的生成，仅检测到痕量的丙酸和己酸。尽管丁酸的微生物电合成已经成为目前除乙酸合成外合成量最大的有机酸，但目前依旧面临选择性低、合成滴度低的问题，并且相比于丁酸而言，更长链的己酸合成效率更低。Jourdin等<sup>[132]</sup>报道了在碳毡电极上目前微生物电合成己酸的最高速率

[0.95 g/(L·d)], 该体系的主要产物仍为乙酸 [9.8 g/(L·d)], 其次为丁酸 [3.2 g/(L·d)]。微生物电合成技术可能成为有机酸低碳绿色合成的一条重要路线, 就目前而言, 虽然合成乙酸的性能已得到很大提升, 但还停留在实验室规模上, 由于产物选择性低, 导致最高产量的提升幅度不大, 后处理和分离成本高等限制了其实际应用。而更长链的有机酸产量更加微量, 且生产过程中的副产物更加复杂。因此, 控制产物的选择性, 提高产率将是未来微生物电合成有机酸工业化进程中的研究重点。

### 2.1.2 电合成醇类

醇类如乙醇、丁醇作为替代燃料应用广泛, 开发微生物电合成醇类将有助于拓展该项技术的应用范围。微生物电合成的有机酸如甲酸、乙酸被认为是进一步还原产生相应醇类的前驱体, 当体系中积累一定量的有机酸时, 将促使还原反应的增强, 进而生成相应的醇(表3)。Sandipam等<sup>[23]</sup>利用气体扩散电极进行了长达90 d的微生物电合成发酵实验, 结果发现在发酵初期, 甲酸、乙酸等有机酸迅速产生和积累, 在反应进行至约40 d时, 乙醇逐渐产生, 到最终发酵结束, 乙醇积累量达21 g/L, 高于有机酸的积累量(13 g/L)。José等<sup>[133]</sup>发现通过控制有机酸的负载量在约4 g COD/L时, 有助于提高微生物还原有机酸合成相应醇的最终产量。Abdul Hakeem等<sup>[139]</sup>对比研究了碳毡、不锈钢和钴电沉积碳毡等不同电极材料在微生物电合成乙醇中的影响, 结果发现, 使用钴电沉积碳毡混合电极可以增强电流密度, 从而提高乙酸产量和乙醇产量。Arends等<sup>[140]</sup>报道了异丙醇的合成, 产率达3.3 g/(m<sup>2</sup>·d), 这也是首次对二级醇电合成的报道。目前对于微生物电合成醇类的研究还处于起步阶段, 由于醇的产生需要相应有机酸的积累, 这就导致醇类的微生物电合成耗时较长且产率较低, 长链醇的合成更加困难。同时, 长时间发酵对菌群的稳定性要求较高。因此, 富集选择性产醇的微生物菌群, 并与微生物电合成有机酸体系进行模块化级联, 可能是解决当前醇类微生物电合成问题的有效手段<sup>[141]</sup>。

### 2.1.3 电合成甲烷

甲烷作为燃料气体, 在日常生活和工业中均

有广泛的应用。微生物电合成甲烷一条是极具吸引力的路线。首先, 甲烷常温下呈气态形式, 生成后可直接收集、储存或应用, 无需产物分离纯化; 其次, 产甲烷菌在污水和污泥中丰度较高, 有望实现较高产量的生产(表3)。Cheng等<sup>[135]</sup>首次报道了在菌群中占主导的沼泽甲烷杆菌直接利用电极上的电子将捕获的CO<sub>2</sub>还原为甲烷, 但生产速率仅为9.6 mL/d。Jiang等<sup>[136]</sup>应用-950 mV vs. Ag/AgCl的电压, 将甲烷的生产速率提升至129.32 mL/d。甲烷的产生可以由微生物直接从电极获取电子或间接利用电极产生的氢气还原CO<sub>2</sub>产生, 在微生物发酵中, 通常提升生物量有利于产物的积累, 但在微生物电合成系统中, 只有与电极材料相互作用的微生物才能发挥作用。因此, 增加电极材料的比表面积是提高有效生物量进而提升产物量的有效方法。Liu等<sup>[138]</sup>通过在反应床中填充活性炭和石墨颗粒作为电极材料, 在一定程度上提升了电极材料的比表面积, 有助于微生物的附着和生物被膜的形成, 从而显著提高了甲烷的产率[65 L/(m<sup>2</sup>·d)]。甲烷生产通常需要高温、高压, 这将造成安全隐患和不可再生能量的输入, Yong等<sup>[142]</sup>通过工程化的光合沼泽红假单胞菌(*Rhodospseudomonas palustris*)实现在室温、常压下光驱动的甲烷生成, 为甲烷合成提供了新思路。

## 2.2 纯菌微生物电合成

相比于混合菌群微生物电合成, 利用纯菌微生物电合成产物选择性高, 避免了后期分离困难, 同时, 纯菌可作为研究微生物和电极相互作用机制的模型, 有助于从理论上分析微生物电合成系统的关键影响因素以提高性能。此外, 遗传操作和代谢调控的应用可能提高微生物合成目标产物的专一性和产量。目前报道的能直接利用电极电子还原CO<sub>2</sub>的微生物有卵巢孢子菌(*Sporomusa ovata*)<sup>[120]</sup>、永达尔梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)、热醋穆尔氏菌(*Moorella thermoacetica*)等<sup>[143]</sup>。

### 2.2.1 卵巢孢子菌电合成

卵巢孢子菌是一种产电性微生物, 可利用电极上的电子固定CO<sub>2</sub>产生有机化学品。Nevin等<sup>[120]</sup>

首次报道了在石墨阴极上生长的卵巢孢子菌可直接利用电极电子固定  $\text{CO}_2$  生产乙酸和 2-氧代丁酸酯。Lehtinen 等<sup>[144]</sup> 将电合成分两个阶段进行, 以卵巢孢子菌产生的乙酸作为底物, 在 *Acinetobacter baylyi* 中转化生成链烷基酯。除了菌种, 对电极表面进行修饰也是一种提高微生物电合成效率的有效手段。例如, Chen 等<sup>[121]</sup> 利用石墨电极上负载还原石墨烯氧化物并修饰上四乙烯 (rGO-TEPA) 的电极负载卵巢孢子菌, 显著提高了  $\text{CO}_2$  到乙酸的转化效率 [图 11(a)]。此外, 有研究表明利用石墨烯/碳毡复合材料<sup>[122]</sup>、碳布上负载聚(3,4-亚乙基二氧噻吩): 聚苯乙烯磺酸盐 (PEDOT:PSS) 聚合物<sup>[123]</sup> 以及还原石墨烯氧化物包覆泡沫铜<sup>[124]</sup> 等材料作为电极, 均有利于卵巢孢子菌生物被膜的形成, 从而提高利用  $\text{CO}_2$  产乙酸效率。Christakopoulos 等<sup>[125]</sup> 首次应用 3D 打印技术打印了包含卵巢孢子菌的“合成生物膜”, 以改善微生物在电极上的定植和两者之间的电子传递效率, 将产乙酸的速率提升至  $104 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ , 相比于传统修饰的电极材料系统, 产乙酸的速率提高了一个数量级。

除微生物与电极相互作用外, 固-液-气三相之间的传质也是影响微生物电合成效率的一个重要因素。Bian 等<sup>[126]</sup> 采用多孔镍中空纤维 (porous nickel hollow fibers, Ni-PHF) 修饰的 CNT 作为

阴极材料, 为气态分子  $\text{CO}_2$  的吸附提供便利的同时, 还提高了材料的导电性能。氢气作为微生物还原  $\text{CO}_2$  的电子供体, 其在电合成体系中的含量和传递效率将会直接影响产率。Bergel 等<sup>[145]</sup> 发现, 在以卵巢孢子菌构建的电合成体系中, 以  $20 \text{ mL}/\text{min}$  速度通入氢气比未通氢气情况下产生的乙酸高 2 倍。Rodrigues 等<sup>[127]</sup> 开发了全氟化碳纳米乳液作为氢气的传递介质 [图 11(b)], 将卵巢孢子菌生产乙酸的速率提高了 1.9 倍, 乙酸的平均滴度为  $6.4 \text{ g}/\text{L}$ , 法拉第效率达 100%, 以此证明了提高氢气的传质, 能在一定程度上提高卵巢孢子菌电合成乙酸的产生速率, 也验证了气体载体在解决传质效率限制是可行的。由于卵巢孢子菌是严格厌氧菌, 在合成体系中, 阳极电解水产生的氧气进入阴极对菌造成较大氧毒害作用, 为了克服这一缺点, Shi 等<sup>[146]</sup> 对卵巢孢子菌进行耐氧驯化, 获得两株能在  $0.5\% \sim 5\%$  氧气含量下正常生长的突变株。

### 2.2.2 永达尔梭菌电合成

永达尔梭菌属于化能自养微生物, 可在  $\text{CO}_2$ 、 $\text{CO}$  和  $\text{H}_2$  组成的合成气中生长, 并合成多种化学品 (如乙酸、丁酸) 和燃料 (如乙醇)。该菌在 2011 年首次被发现具有利用电子的能力, 并被用于构建微生物电合成体系<sup>[143]</sup>。研究发现梭菌属中的乙醇梭菌 (*Clostridium autoethanogenum*)<sup>[147]</sup> 和粪便梭

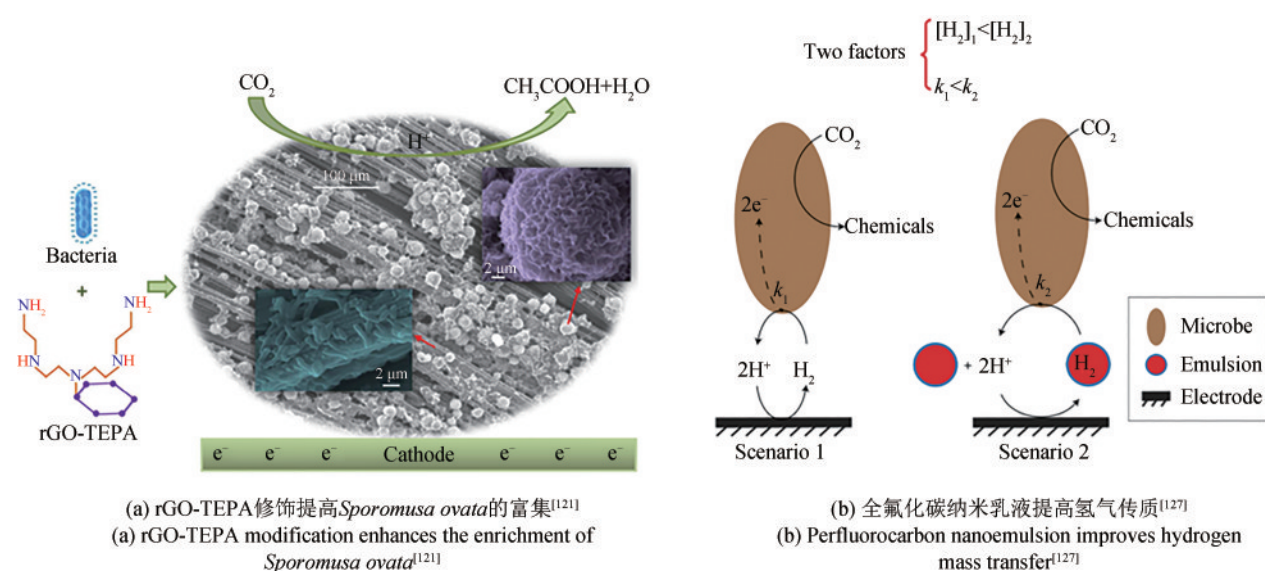


图 11 微生物电合成体系的优化策略

Fig. 11 Optimization strategy of microbial electrosynthesis system

菌 (*Clostridium scatologenes* ATCC 25775)<sup>[148]</sup> 也具有直接从电极上获取电子的能力。Roy等<sup>[128]</sup>报道了永达尔梭菌电合成体系直接利用工厂排放的CO<sub>2</sub>产乙酸，生产速率达1.1 g/(L·d)。相比于卵巢孢子菌，永达尔梭菌在电合成体系中产乙酸能力有限<sup>[149]</sup>，不过产乙醇能力较强<sup>[134]</sup>，但产乙酸、乙醇速率低是目前该菌应用过程中面临的主要问题，即使采用电极修饰等手段，对其生产速率的提升也非常有限<sup>[150]</sup>。这可能是由于在该菌的Wood-Ljungdahl途径中转化CO<sub>2</sub>到甲酸的甲酸脱氢酶活性不高所导致的<sup>[43]</sup>。

### 2.2.3 热醋穆尔氏菌电合成

热醋穆尔氏菌是一种产芽孢的革兰氏阳性菌，属于严格厌氧菌。Yu等<sup>[129]</sup>首次报道了在55℃下用热醋穆尔氏菌构建微生物电合成体系，通过纳米颗粒将热醋穆尔氏菌固定到电极上，与天然生物被膜相比，从CO<sub>2</sub>电合成甲酸和乙酸的速率分别提高了7.9倍和14倍。后续研究发现加入电子中介体（如胡敏素）<sup>[151]</sup>或降低细胞通透性<sup>[152]</sup>能提高热醋穆尔氏菌与电极之间的电子传递效率，从而提高其CO<sub>2</sub>转化效率。此外，有研究人员将热醋穆尔氏菌与CdS半导体偶联，将光能转化为电能供给热醋穆尔氏菌产乙酸[图12(a)]，这是非光敏细菌发挥人工光合作用的首次报道<sup>[153]</sup>。然而，在该体系中，CdS纳米颗粒具有生物毒性，为解决这一问题，研究团队构建了金纳米簇，并发现金纳

米簇对热醋穆尔氏菌具有良好的生物相容性。作者将金纳米簇植入细胞内，大大提高了光敏材料与细菌之间的电子传递效率，成功“合成”了人工光合细菌[图12(b)]<sup>[154]</sup>。

微生物电合成技术作为一种绿色的固碳技术有望逐步取代现有的部分化学生产。但在推向工业化进程中，该技术仍面临一些挑战。首先是生产效率不高且产品种类较为单一。生产效率受限于电极和微生物之间以及跨膜的电子传递效率，通过电极材料修饰是解决该问题的有效手段之一<sup>[155]</sup>。此外，以合成生物学手段改造底盘细胞的代谢途径可实现多种产品的产生，如Tan等<sup>[156]</sup>通过对酿酒酵母进行改造，实现从CO<sub>2</sub>或甲酸出发合成脂肪酸，Ni等<sup>[157]</sup>通过工程细胞实现CO<sub>2</sub>到烯烃、肉桂醛和姜黄素等多种化学品的合成。建立电活微生物的遗传操作系统并对其进行代谢改造，将有望提高微生物电合成的效率、丰富产品种类，进而推动该技术在CO<sub>2</sub>转化工业上的应用。其次，电极材料的高昂成本也是阻碍该项技术工业发展的重要因素。Yong等<sup>[158]</sup>通过合成生物学手段在细胞表面表达能与金属相互作用的curli纳米纤维，增强了微生物细胞与不锈钢之间的相互作用，使得廉价不锈钢作为电极，有望降低电极材料成本。微生物电合成技术日趋成熟，一些关键技术环节得到解决，有望在不久成为一项固碳技术平台在CO<sub>2</sub>转化工业上发挥重要作用。但在微生物电合成

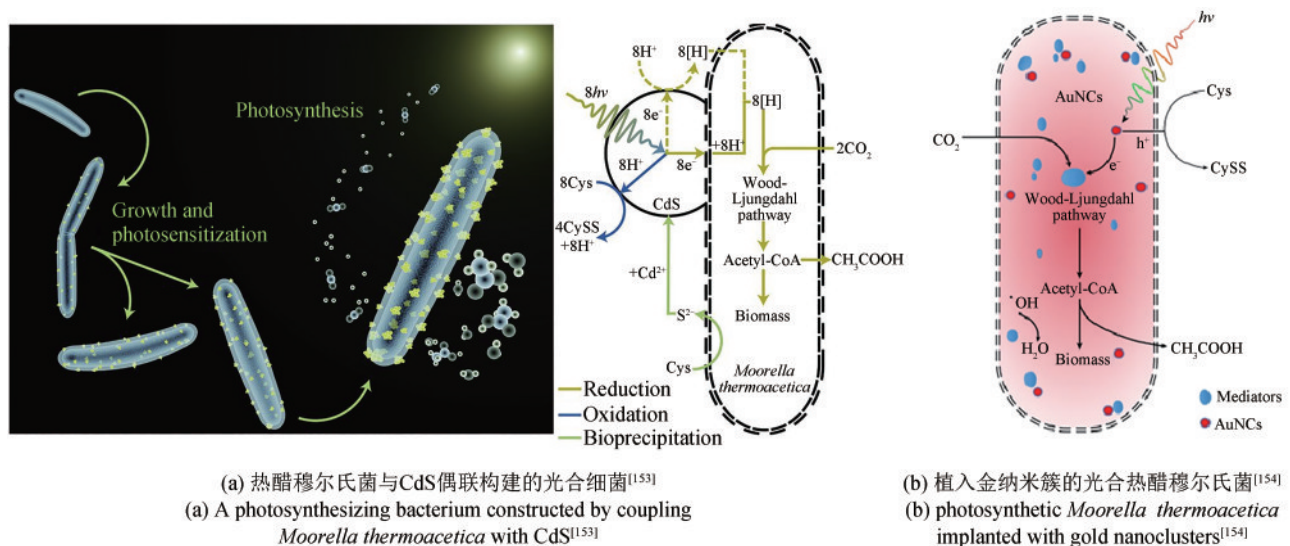


图12 基于热醋穆尔氏菌的光驱动电合成体系

Fig. 12 Light-driven electrosynthesis system based on *Moorella thermoacetica*

中还存在着一些有待解决的科学问题, 比如目前的电微生物本身固碳效率有限, 突破现有微生物的固碳能力极限是实现高效固碳的关键途径, 通过合成生物学技术结合人工智能挖掘高活性的酶元件, 并在微生物底盘细胞中进行代谢途径重构是解决该问题的有效途径。其次, 微生物细胞与电极之间以及在细胞膜上、细胞内的电子传递机制有待解析, 清晰的电子传递机制能为调控电子流向和提高电子传递效率提供重要指导。

### 3 间接电能辅助CO<sub>2</sub>生物转化利用

受限于酶本身的催化效率、微生物耐电性和异相电子传递效率等因素, 固碳酶或固碳微生物的直接电催化固碳效率低下, 在这种情况下, 电能间接辅助CO<sub>2</sub>生物转化提供了一种有效的解决方案。以下将阐述三种间接电能辅助CO<sub>2</sub>生物转化路径, 包括化学电催化-生物催化结合、电催化辅因子再生-生物催化结合和电解水产氢-生物催化结合。

#### 3.1 化学电催化-生物催化融合固碳

化学电催化可将CO<sub>2</sub>还原为C<sub>1</sub>/C<sub>2</sub>产物, 如CO、甲酸、甲醇、乙醇、乙酸等<sup>[12, 159-164]</sup>, 其固碳速率远高于直接生物电催化, 然而, 其在C—C偶联方面的能力较差, 很难合成多碳产物(C<sub>n</sub>, n>3)。相比较而言, 以C<sub>1</sub>/C<sub>2</sub>为底物, 通过生物催化的方式, 很容易实现多碳产物的高效合成<sup>[18, 21, 165]</sup>。因此, 将化学电催化和生物催化结合, 优势互补可能是实现CO<sub>2</sub>高效转化的一种有效路径[图13(a)]。采用这一路径, Zheng等<sup>[166]</sup>构建了一种电-生物杂合系统, 通过耦合空间分离的CO<sub>2</sub>电催化还原过程和酵母发酵过程, 实现了CO<sub>2</sub>向葡萄糖的高效转化[图13(b)]。在该系统中, CO<sub>2</sub>首先通过化学电催化的方式, 以Ni-N-C单原子催化剂和Cu为电催化剂, 经过两步法合成乙酸, 然后以乙酸为底物, 通过酿酒酵母发酵合成了葡萄糖。经过基因工程改造后, 葡萄糖的生成速率可达到8.90 μmol/(g·h)。类似地, Hann等<sup>[167]</sup>也通过两步电催化法将CO<sub>2</sub>转化为乙酸盐, 进一步以乙酸盐为碳源进行酵母、

丝状真菌和光合绿藻的异养培养, 实现食品原料的非光合生长[图13(c)]。此外, Zhang等<sup>[168]</sup>通过化学-生物界面设计, 构建了一个以C<sub>2</sub>为中间产物的电-微生物转化集成系统, 实现了CO<sub>2</sub>向中长链聚羟基脂肪酸酯(PHA)的转化, PHA在24 h内的累积量可达到556.2 mg/L[图13(d)]。罗尔斯通氏菌可以利用甲酸作为电子载体。Liao等<sup>[169]</sup>利用铟箔作为阴极材料催化CO<sub>2</sub>还原生产甲酸, 并在罗尔斯通氏菌中导入异丁醇和3-甲基-1-丁醇的合成途径, 该电合成体系在100 h内产生了140 mg/L的丁醇, 但该材料在电还原CO<sub>2</sub>过程中产生活性氧或氮等不稳定化合物对微生物具有较强的抑制作用。为此, Song等<sup>[170]</sup>利用甲酸脱氢酶取代化学电催化剂还原CO<sub>2</sub>, PHB的产量达485 mg/L。

尽管该路径已经取得了一些进展, 但相关研究仍处于初始阶段, 面临着较大挑战, 特别是体系的整体能量效率较低, 这很大程度上与化学电催化剂过电势高和选择性差等因素有关, 同时也与体系的复杂性有重要关联。筛选高效的电催化剂, 构建兼容的化学-生物界面, 改造生物转化途径和优化系统集成对提高整体能量效率具有重要意义。

#### 3.2 电催化辅因子再生-生物催化融合固碳

在生物催化还原反应中, 还原力往往是由辅因子(例如NADH、NADPH等)提供<sup>[171-172]</sup>。高效再生还原力对提高催化效率至关重要。研究表明, 电极上的电子可以直接传递到辅因子上, 实现其再生利用<sup>[173-174]</sup>。电催化辅因子再生-生物催化融合固碳路径通过电再生辅因子, 实现高效生物固碳过程[图14(a)]。NADPH依赖型还原羧化酶可以将CO<sub>2</sub>转化为具有立体选择性的羧化产物。Çeda-Losada等<sup>[175]</sup>利用甲基紫精修饰的水凝胶将NADP<sup>+</sup>还原酶和巴豆酰辅酶A羧化酶共固定到电极上, 实现NADPH的电再生和2S-乙炔基-丙二酰基辅酶A的合成[图14(b)], 法拉第效率和形成速率可分别达到92%±6%和(1.6±0.4) μmol/(cm<sup>2</sup>·h)。Wu等<sup>[176]</sup>将电化学辅因子再生与多酶分子机器耦合, 同步转化CO<sub>2</sub>和NH<sub>3</sub>, 成功合成了甘氨酸[图14(c)]。甘氨酸的最高反应速率和法拉第效率

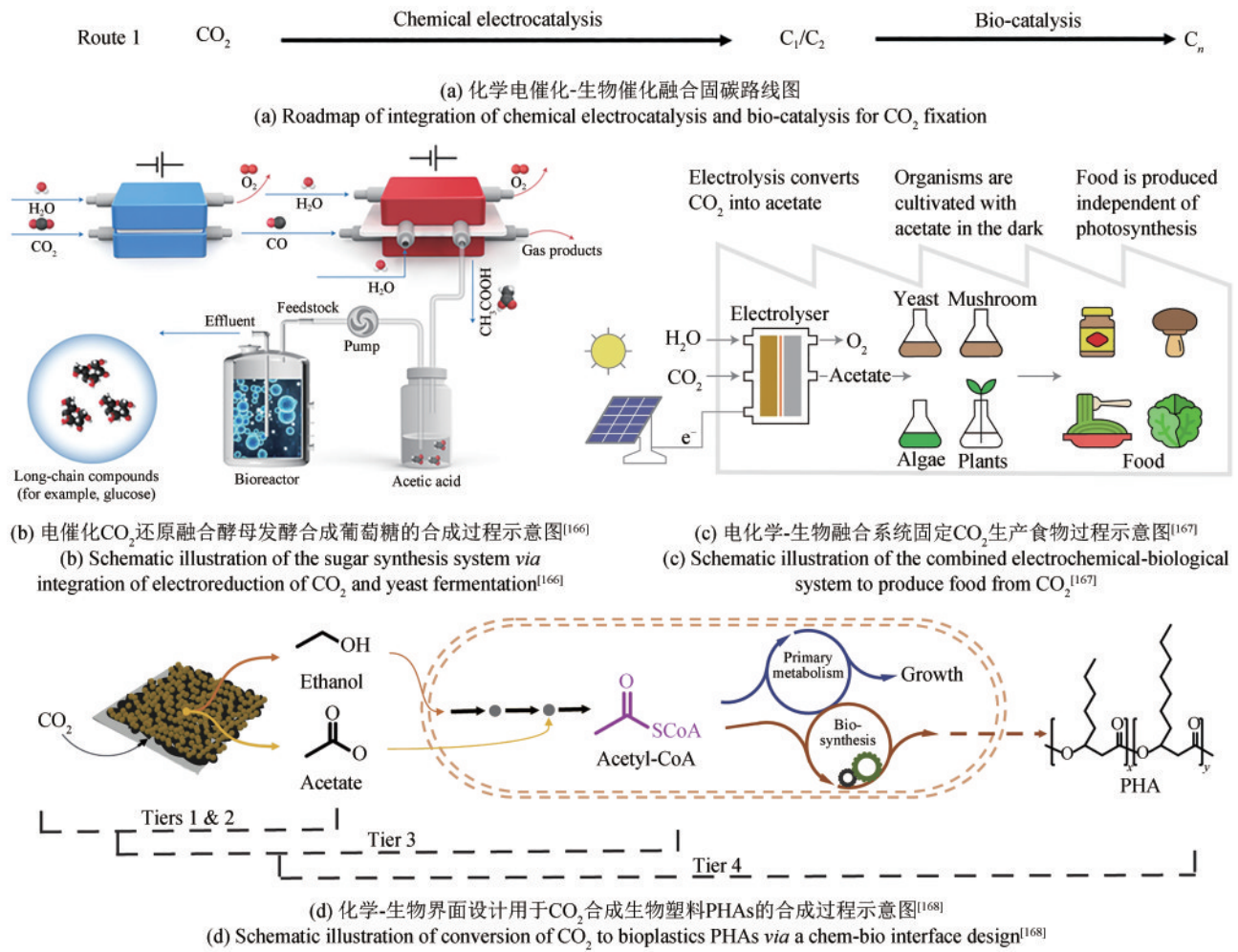


图13 化学电催化-生物催化融合固碳策略

Fig. 13 Chemoelectrocatalysis-biocatalytic carbon sequestration strategy

可分别达  $8.69 \text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{h})$  和  $96.8\%$ 。由于用于辅因子再生的电子来源于电极，选取合适的电极材料高效固定辅因子以及使用合适的电子中介体加快电子传递，可以有效提高辅因子再生速率，进而改善整体固碳效率。

### 3.3 电解水产氢-生物催化融合固碳

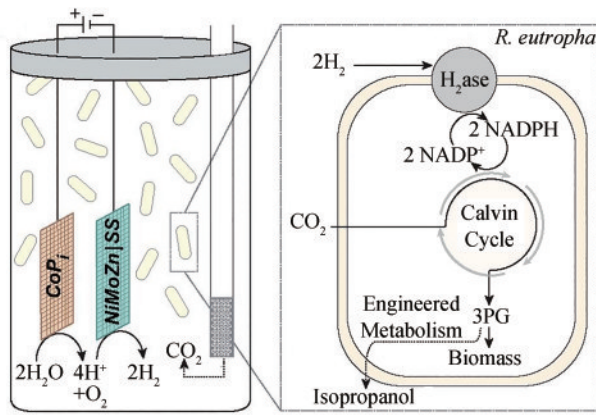
电解水产氢-生物催化融合固碳是另外一种间接电能辅助  $\text{CO}_2$  生物转化的方式。 $\text{H}_2$  代谢在细菌、绿藻和高等植物组织中广泛存在，特别是在固碳微生物中， $\text{CO}_2$ /甲酸的转化常常伴随着  $\text{H}_2/\text{H}^+$  的转化。电解水制  $\text{H}_2$  可实现生物催化的原位氢供应，避免了氢产储运的安全问题和成本问题。电解水产氢-生物催化融合固碳途径如图 15(a) 所示。

微生物利用电极产生的氢气还原  $\text{CO}_2$  被认为是微生物电合成中的间接电子传递，与直接微生物电合成不同，该路径不要求微生物具有嗜电性，应用范围更广<sup>[179-180]</sup>。罗尔斯通氏菌能在  $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2$  和  $\text{O}_2$  混合气体中进行自养生长<sup>[181]</sup>。在微生物电合成中，罗尔斯通氏菌利用电极产生的氢气作为还原力，将  $\text{CO}_2$  转化为多碳有机物质，主要包括聚- $\beta$ -羟丁酸 (poly- $\beta$ -hydroxybutyrate, PHB)、异丙醇等<sup>[182]</sup>。良好的析氢电极材料对提升  $\text{CO}_2$  生物转化效率至关重要。Hou 等<sup>[154]</sup> 将金属镍嵌入 N 掺杂的碳纳米管中制备成  $\text{Ni}@\text{N-C}$  阴极材料，产  $\text{H}_2$  的法拉第效率达  $60.02\% \pm 1.00\%$ ，一周内 PHB 的产量达  $384 \text{ mg}/\text{L}$ 。Shi 等<sup>[183]</sup> 在传统微生物电合成体系中额外加入一种高析氢能力的钛钢阴极，组成双阴极体系。该体系与单阴极相比，将卵巢孢子菌



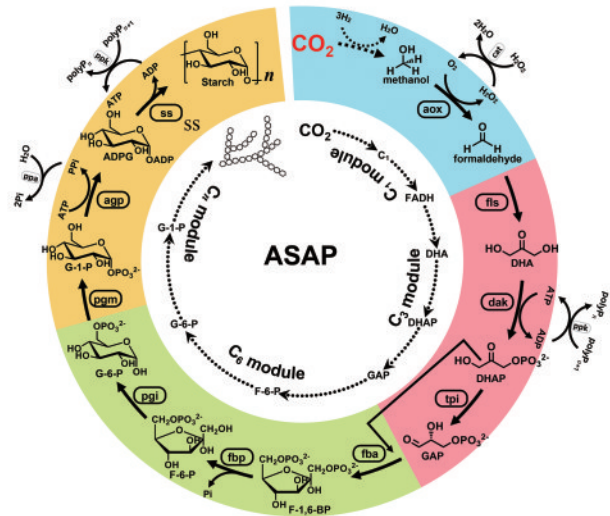


(a) 电解水产氢-生物催化融合固碳路线图

(a) Roadmap of integration of electrolysis water-splitting to hydrogen and bio-catalysis for  $\text{CO}_2$  fixation

(b) 微生物-电解水杂合系统合成异丙醇示意图

(b) Schematic illustration of isopropanol synthesis from a hybrid microbial-water-splitting catalyst system



(c) 化学-生物杂合人工淀粉合成系统示意图

(c) Schematic illustration of artificial starch anabolic pathway via a chemical-biochemical hybrid pathway

图 15 电解水产氢-生物融合固碳策略<sup>[177-178]</sup>Fig. 15 Electrolytic aquatic hydrogen-biological carbon fixation strategy<sup>[177-178]</sup>

还原  $\text{CO}_2$  的效率提高了 2 倍多。Torella 等<sup>[177]</sup> 以电解水形成的  $\text{H}_2$  为电子载体，驱动  $\text{CO}_2$  在罗尔斯通氏菌中的转化，实现异丙醇的生产 [图 15(b)]，经过改造的罗尔斯通氏菌可以生产 216 mg/L 的异丙醇。Sliver 和 Nocera 等<sup>[177, 184]</sup> 利用该突变菌株建立的电合成体系，系统考查了电极材料和活性氧对体系的影响，实现了电能到化学能 39% 的转化率，耦联光伏装置，使太阳能到醇和 PHB 的转化率分别提高至 7.1% 和 7.6%。为解决活性氧的细胞毒性问题，Markus 等<sup>[185]</sup> 将 Kolbe 电解反应体系和微生物生长体系隔开，Kolbe 电解体系产生正辛烷的同时产生  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2$  混合气体副产物，该混合气通入到罗尔斯通氏菌培养体系中转化为异丙醇等产物，实现 41% 的碳转化效率。罗尔斯通氏菌作为能利用  $\text{CO}_2$  的非致病菌，在生物塑料如 PHB、生物燃料（异丙醇及丁醇），甚至微生物蛋白生产方面具有应用潜力，因此，后续研究可在  $\text{H}_2$  高效利用、菌株改良、消除 ROS 抑制等方面进一步深入。

此外，以  $\text{H}_2$  作为还原力，在热催化作用下可

以将  $\text{CO}_2$  高效还原为甲醇，而甲醇可以作为生物催化的底物，进一步合成多碳产物。Cai 等<sup>[178]</sup> 以  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2$  为原料，通过化学-生物化学杂合方式，首次实现了人工淀粉合成 [图 15(c)]。固碳速率可达到  $22 \text{ nmol CO}_2/(\text{min} \cdot \text{mg}_{\text{cat}})$ ，是玉米光合作用合成淀粉速率的 8.5 倍。该人工淀粉合成路径中涉及 11 个核心反应，4 个反应模块。优化反应路径和提高能量效率是该体系提高整体固碳效率的关键。

## 4 挑战与展望

本文从合成生物学角度出发，综述了电能辅助  $\text{CO}_2$  生物转化的研究进展，重点涵盖了固碳酶、固碳微生物直接电催化固定  $\text{CO}_2$ ，以及利用材料电催化、辅因电再生及电解水制氢等间接利用电能转化  $\text{CO}_2$  技术。与物理固碳和化学固碳相比，生物固碳因其产物的多样性而具有巨大的发展潜力，可以产生能源燃料或化工中间体，如甲酸、甲醇，以及生物/化学大分子（淀粉、脂肪酸、蛋白质、

PHB)等。随着合成生物技术的日臻成熟及各相关模块研究的进一步深入,未来有望实现更多种类产物的合成,真正实现零碳或负碳的第三代生物炼制。 $\text{CO}_2$ 转化的关键在于能量的注入和激活,在目前可利用的能量来源如光能、热能、化学能与电能中,电能不仅属于可再生清洁能源,且随着光伏和风电大范围普及,电能成本和利用便捷性方面的优势将逐渐凸显。因此,电能辅助 $\text{CO}_2$ 生物转化具有广阔的应用前景,有望为实现“双碳”目标提供切实可行的实施方案,并为经济发展创造新的增长点。

电能辅助 $\text{CO}_2$ 生物转化研究尚处于早期阶段,除产物多样性需要通过多酶催化或微生物代谢途径优化拓展外, $\text{CO}_2$ 转化速率和能量转化效率也迫切需要提高。转化速率的问题,一方面是由于大部分固碳酶/固碳微生物本身转化 $\text{CO}_2$ 能力有限,材料电催化将 $\text{CO}_2$ 转化为 $\text{C}_1/\text{C}_2$ 化合物效率较高,耦联多酶催化反应或利用一碳的微生物,可部分解决固碳效率低的问题,但材料电催化不可避免地面临过电势高、产物选择性差、与生物转化适配性差等问题,因此仍需要在电催化剂设计制备、两步反应适配优化、反应器设计构建等方面深入研究;另一方面,电极与结构较为复杂的固碳酶或微生物之间电子传递机制尚不清晰,无法实现对电子流向及流速的精准控制。以来源于*Thermoanaerobacter kivui*的氢依赖型 $\text{CO}_2$ 还原酶为例,其还原 $\text{CO}_2$ 活性能达 $9\ 556\ 000\ \text{h}^{-1}$ ,但该酶复合体的结构非常庞大,是否具备利用外来电子的能力尚未可知。随着近年来合成生物学领域蓬勃发展,高活性固碳酶的挖掘,人工酶从头设计为突破现有固碳元件效率、酶-电极电子传递效率等问题提供了解决思路。此外,电极界面修饰也是提高酶直接电催化效率的策略之一。关于能量转化效率,自然界光合作用中太阳能的利用效率约为1%,生物电催化剂由于其反应的专一性,电能辅助 $\text{CO}_2$ 生物转化法拉第效率(能量转化效率关键因子之一)一般能达90%以上,最终能量转化效率与产物种类和途径复杂程度有关,例如,人工合成淀粉光能到化学能的综合能量效率为7%<sup>[178]</sup>,电能辅助多酶催化合成甘氨酸的理论电能到化学能效率为57.5%<sup>[176]</sup>。相比之下,材料电催化由于

产物选择性低,法拉第效率一般在40%~70%之间,较生物电催化低,因此耦联生物转化后整体能量转化效率偏低。例如,电催化 $\text{CO}_2$ 还原到乙酸耦联酵母发酵合成葡萄糖/脂肪酸,综合能量效率仅为0.65%<sup>[185]</sup>,较天然光合作用1%能量转化效率还低。因此,提高电催化剂的选择性和生物转化的原子经济性是提高 $\text{CO}_2$ 生物转化能量效率亟需解决的问题。

电能辅助 $\text{CO}_2$ 生物转化的研究,将从科学层面揭示 $\text{CO}_2$ 能量活化和物质转化机制,为途径再设计和过程优化提供重要理论指导,涉及电化学、生物化学、材料科学、合成生物学、有机化学等多学科交叉,是具有挑战性的研究前沿,另外,相关技术在燃料、化工、粮食等领域有巨大应用前景。为了实现该技术的实际应用,需要各个研究方向的研究者发挥各自的优势,通力合作,共同解决固碳效率低、模块适配、反应器设计等问题,以推动该技术的发展并为双碳经济做出贡献。

## 参 考 文 献

- [1] LIU E B, LU X D, WANG D C. A systematic review of carbon capture, utilization and storage: status, progress and challenges [J]. *Energies*, 2023, 16(6): 2865.
- [2] GÜR T M. Carbon dioxide emissions, capture, storage and utilization: review of materials, processes and technologies[J]. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2022, 89: 100965.
- [3] RINGROSE P S, FURRE A K, GILFILLAN S M V, et al. Storage of carbon dioxide in saline aquifers: physicochemical processes, key constraints, and scale-up potential[J/OL]. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 2021, 12: 471-494[2023-06-01]. <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-chembioeng-093020-091447>.
- [4] BIERBAUMER S, NATTERMANN M, SCHULZ L, et al. Enzymatic conversion of  $\text{CO}_2$ : from natural to artificial utilization[J]. *Chemical Reviews*, 2023, 123(9): 5702-5754.
- [5] VALLURI S, CLAREMBOUX V, KAWATRA S. Opportunities and challenges in  $\text{CO}_2$  utilization[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2022, 113: 322-344.
- [6] ONG M Y, NOMANBHAY S, KUSUMO F, et al. Application of microwave plasma technology to convert carbon dioxide ( $\text{CO}_2$ ) into high value products: a review[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 336: 130447.
- [7] LI L, LI X D, SUN Y F, et al. Rational design of electrocatalytic carbon dioxide reduction for a zero-carbon

- network[J]. *Chemical Society Reviews*, 2022, 51(4): 1234-1252.
- [8] LV J J, YIN R N, ZHOU L M, et al. Microenvironment engineering for the electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction reaction[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(39): e202207252.
- [9] HUSSAIN I, ALASIRI H, KHAN W U, et al. Advanced electrocatalytic technologies for conversion of carbon dioxide into methanol by electrochemical reduction: recent progress and future perspectives[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2023, 482: 215081.
- [10] WANG G X, CHEN J X, DING Y C, et al. Electrocatalysis for CO<sub>2</sub> conversion: from fundamentals to value-added products [J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50(8): 4993-5061.
- [11] GUAN Y Y, LIU M M, RAO X F, et al. Electrochemical reduction of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>): bismuth-based electrocatalysts [J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2021, 9(24): 13770-13803.
- [12] LIN L, HE X Y, ZHANG X G, et al. A nanocomposite of bismuth clusters and Bi<sub>2</sub>O<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sheets for highly efficient electrocatalytic reduction of CO<sub>2</sub> to formate[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(3): e202214959.
- [13] SUN B, DAI M W, CAI S C, et al. Challenges and strategies towards copper-based catalysts for enhanced electrochemical CO<sub>2</sub> reduction to multi-carbon products[J]. *Fuel*, 2023, 332: 126114.
- [14] ZHAO S Q, CHRISTENSEN O, SUN Z Z, et al. Steering carbon dioxide reduction toward C—C coupling using copper electrodes modified with porous molecular films[J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 844.
- [15] ZHANG X Y, ZHANG Z, LI H B, et al. Insight into heterogeneous electrocatalyst design understanding for the reduction of carbon dioxide[J]. *Advanced Energy Materials*, 2022, 12(39): 2201461.
- [16] WOLDU A R, HUANG Z L, ZHAO P X, et al. Electrochemical CO<sub>2</sub> reduction (CO<sub>2</sub>RR) to multi-carbon products over copper-based catalysts[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2022, 454: 214340.
- [17] XUE Y Y, GUO Y B, CUI H J, et al. Catalyst design for electrochemical reduction of CO<sub>2</sub> to multicarbon products[J]. *Small Methods*, 2021, 5(10): 2100736.
- [18] YANG Q Y, GUO X X, LIU Y W, et al. Biocatalytic C—C bond formation for one carbon resource utilization[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(4): 1890.
- [19] KATAGIRI T, AMAO Y. Double-electron reduced diphenylviologen as a coenzyme for biocatalytic building carbon-carbon bonds from CO<sub>2</sub> as a carbon feedstock[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2019, 7(10): 9080-9085.
- [20] ONYEAKA H, EKWEBELEM O C. A review of recent advances in engineering bacteria for enhanced CO<sub>2</sub> capture and utilization[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2023, 20(4): 4635-4648.
- [21] MARPANI F, PINELO M, MEYER A S. Enzymatic conversion of CO<sub>2</sub> to CH<sub>3</sub>OH *via* reverse dehydrogenase cascade biocatalysis: quantitative comparison of efficiencies of immobilized enzyme systems[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 127: 217-228.
- [22] MULDER D W, PETERS J W, RAUGEI S. Catalytic bias in oxidation-reduction catalysis[J]. *Chemical Communications*, 2021, 57(6): 713-720.
- [23] ADAMSON H, ROBINSON M, WRIGHT J J, et al. Retuning the catalytic bias and overpotential of a [NiFe]-hydrogenase *via* a single amino acid exchange at the electron entry/exit site [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(31): 10677-10686.
- [24] SRIKANTH S, KUMAR M, SINGH D, et al. Long-term operation of electro-biocatalytic reactor for carbon dioxide transformation into organic molecules[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 265: 66-74.
- [25] SRIKANTH S, SINGH D, VANBROEKHOVEN K, et al. Electro-biocatalytic conversion of carbon dioxide to alcohols using gas diffusion electrode[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 265: 45-51.
- [26] LEE Y S, LIM K, MINTEER S D. Cascaded biocatalysis and bioelectrocatalysis: overview and recent advances[J]. *Annual Review of Physical Chemistry*, 2021, 72: 467-488.
- [27] SCHLAGER S, HABERBAUER M, FUCHSBAUER A, et al. Bio-electrocatalytic application of microorganisms for carbon dioxide reduction to methane[J]. *ChemSusChem*, 2017, 10(1): 226-233.
- [28] SHI J F, JIANG Y J, JIANG Z Y, et al. Enzymatic conversion of carbon dioxide[J]. *Chemical Society Reviews*, 2015, 44(17): 5981-6000.
- [29] WINDLE C D, PERUTZ R N. Advances in molecular photocatalytic and electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2012, 256(21/22): 2562-2570.
- [30] CADOUX C, MILTON R D. Recent enzymatic electrochemistry for reductive reactions[J]. *ChemElectroChem*, 2020, 7(9): 1974-1986.
- [31] CHEN H, HUANG Y, SHA C, et al. Enzymatic carbon dioxide to formate: mechanisms, challenges and opportunities[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2023, 178: 113271.
- [32] SAHM H, WAGNER F. Mikrobielle Verwertung von Methanol. Eigenschaften der formaldehyddehydrogenase und der formiatdehydrogenase aus *Candida boidinii*[J/OL]. *Archiv Für Mikrobiologie*, 1973, 90(3): 263-268[2023-06-01]. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00424978>.

- SAHM H, WAGNER F. Microbial assimilation of methanol. Properties of formaldehyde dehydrogenase and formate dehydrogenase from *Candida boidinii*[J]. Archives of Microbiology, 1973, 90(3): 263-268[2023-06-01]. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00424978>.
- [33] CHO E H, JOO J C, CHO D H, et al. Efficient CO<sub>2</sub>-reducing activity of NAD-dependent formate dehydrogenase from *Thiobacillus* sp. KNK65MA for formate production from CO<sub>2</sub> gas[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e103111.
- [34] ALTAŞ N, ASLAN A S, KARATAŞ E, et al. Heterologous production of extreme alkaline thermostable NAD<sup>+</sup>-dependent formate dehydrogenase with wide-range pH activity from *Myceliophthora thermophila*[J]. Process Biochemistry, 2017, 61: 110-118.
- [35] AVILOVA T V, EGOROVA O A, IOANESYAN L S, et al. Biosynthesis, isolation and properties of NAD-dependent formate dehydrogenase from the yeast *Candida methylca*[J]. European Journal of Biochemistry, 1985, 152(3): 657-662.
- [36] YZGÜN G, KARAGÜLER N G, TURUNEN O, et al. Characterization of a new acidic NAD<sup>+</sup>-dependent formate dehydrogenase from thermophilic fungus *Chaetomium thermophilum*[J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2015, 122: 212-217.
- [37] MULLER U, WILLNOW P, RUSCHIG U, et al. Formate dehydrogenase from *Pseudomonas oxalaticus*[J]. European Journal of Biochemistry, 1978, 83(2): 485-498.
- [38] DE BOK F A M, HAGEDOORN P L, SILVA P J, et al. Two W-containing formate dehydrogenases (CO<sub>2</sub>-reductases) involved in syntrophic propionate oxidation by *Syntrophobacter fumaroxidans*[J]. European Journal of Biochemistry, 2003, 270(11): 2476-2485.
- [39] OLIVEIRA A R, MOTA C, MOURATO C, et al. Toward the mechanistic understanding of enzymatic CO<sub>2</sub> reduction[J]. ACS Catalysis, 2020, 10(6): 3844-3856.
- [40] SCHWARZ F M, SCHUCHMANN K, MÜLLER V. Hydrogenation of CO<sub>2</sub> at ambient pressure catalyzed by a highly active thermostable biocatalyst[J]. Biotechnology for Biofuels, 2018, 11: 237.
- [41] ALISSANDRATOS A, KIM H K, MATTHEWS H, et al. *Clostridium carboxidivorans* strain P7T recombinant formate dehydrogenase catalyzes reduction of CO<sub>2</sub> to formate[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(2): 741-744.
- [42] BASSEGODA A, MADDEN C, WAKERLEY D W, et al. Reversible interconversion of CO<sub>2</sub> and formate by a molybdenum-containing formate dehydrogenase[J]. Journal of the American Chemical Society, 2014, 136(44): 15473-15476.
- [43] ÇAKAR M M, MANGAS-SANCHEZ J, BIRMINGHAM W R, et al. Discovery of a new metal and NAD<sup>+</sup>-dependent formate dehydrogenase from *Clostridium ljungdahlii*[J]. Preparative Biochemistry & Biotechnology, 2018, 48(4): 327-334.
- [44] HARTMANN T, LEIMKÜHLER S. The oxygen-tolerant and NAD<sup>+</sup>-dependent formate dehydrogenase from *Rhodobacter capsulatus* is able to catalyze the reduction of CO<sub>2</sub> to formate [J]. The FEBS Journal, 2013, 280(23): 6083-6096.
- [45] MAIA L B, FONSECA L, MOURA I, et al. Reduction of carbon dioxide by a molybdenum-containing formate dehydrogenase: a kinetic and mechanistic study[J]. Journal of the American Chemical Society, 2016, 138(28): 8834-8846.
- [46] YU X J, NIKS D, MULCHANDANI A, et al. Efficient reduction of CO<sub>2</sub> by the molybdenum-containing formate dehydrogenase from *Cupriavidus necator* (*Ralstonia eutropha*) [J]. Journal of Biological Chemistry, 2017, 292(41): 16872-16879.
- [47] MIN K, PARK Y S, PARK G W, et al. Elevated conversion of CO<sub>2</sub> to versatile formate by a newly discovered formate dehydrogenase from *Rhodobacter aestuarii*[J]. Bioresource Technology, 2020, 305: 123155.
- [48] SCHUCHMANN K, MÜLLER V. Direct and reversible hydrogenation of CO<sub>2</sub> to formate by a bacterial carbon dioxide reductase[J]. Science, 2013, 342(6164): 1382-1385.
- [49] NILOV D K, SHABALIN I G, POPOV V O, et al. Molecular modeling of formate dehydrogenase: the formation of the Michaelis complex[J]. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2012, 30(2): 170-179.
- [50] YILMAZER B, ISUPOV M N, DE ROSE S A, et al. Structural insights into the NAD<sup>+</sup>-dependent formate dehydrogenase mechanism revealed from the NADH complex and the formate NAD<sup>+</sup> ternary complex of the *Chaetomium thermophilum* enzyme[J]. Journal of Structural Biology, 2020, 212(3): 107657.
- [51] PARKINSON B A, WEAVER P F. Photoelectrochemical pumping of enzymatic CO<sub>2</sub> reduction[J]. Nature, 1984, 309(5964): 148-149.
- [52] KIM S, KIM M K, LEE S H, et al. Conversion of CO<sub>2</sub> to formate in an electroenzymatic cell using *Candida boidinii* formate dehydrogenase[J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2014, 102: 9-15.
- [53] KIM S H, CHUNG G Y, KIM S H, et al. Electrochemical NADH regeneration and electroenzymatic CO<sub>2</sub> reduction on Cu nanorods/glassy carbon electrode prepared by cyclic deposition[J]. Electrochimica Acta, 2016, 210: 837-845.
- [54] SRIKANTH S, MAESEN M, DOMINGUEZ-BENETTON X, et al. Enzymatic electrosynthesis of formate through CO<sub>2</sub> sequestration/reduction in a bioelectrochemical system (BES) [J]. Bioresource Technology, 2014, 165: 350-354.
- [55] ZHANG L J, LIU J Y, ONG J, et al. Specific and sustainable

- bioelectro-reduction of carbon dioxide to formate on a novel enzymatic cathode[J]. *Chemosphere*, 2016, 162: 228-234.
- [56] BARIN R, BIRIA D, RASHID-NADIMI S, et al. Enzymatic CO<sub>2</sub> reduction to formate by formate dehydrogenase from *Candida boidinii* coupling with direct electrochemical regeneration of NADH[J]. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 2018, 28: 117-125.
- [57] LIU G H, CHEN H X, ZHAO H, et al. Accelerating electroenzymatic CO<sub>2</sub> reduction by immobilizing formate dehydrogenase on polyethylenimine-modified mesoporous silica[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2022, 10(1): 633-644.
- [58] YAN L H, LIU G H, LIU J Q, et al. Hierarchically porous metal organic framework immobilized formate dehydrogenase for enzyme electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 450: 138164.
- [59] LI Y X, YAN L H, LIU G H, et al. Enhanced electroenzymatic CO<sub>2</sub> reduction by a multifunctional ZIF-8 layer on silica nanoflower with immobilized enzyme[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 466: 143198.
- [60] SONG H Y, MA C L, 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]. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 2019, 34: 568-575.
- [61] REGINALD S S, KIM M J, LEE H, et al. Direct electrical contact of NAD<sup>+</sup>/NADH-dependent dehydrogenase on electrode surface enabled by non-native solid-binding peptide as a molecular binder[J]. *Electrochimica Acta*, 2022, 421: 140480.
- [62] BARIN R, BIRIA D, RASHID-NADIMI S, et al. Investigating the enzymatic CO<sub>2</sub> reduction to formate with electrochemical NADH regeneration in batch and semi-continuous operations[J]. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 2019, 140: 78-84.
- [63] ALI I, GILL A, OMANOVIC S. Direct electrochemical regeneration of the enzymatic cofactor 1,4-NADH employing nano-patterned glassy carbon/Pt and glassy carbon/Ni electrodes[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 188: 173-180.
- [64] WANG X D, YIU H H P. Heterogeneous catalysis mediated cofactor NADH regeneration for enzymatic reduction[J]. *ACS Catalysis*, 2016, 6(3): 1880-1886.
- [65] ZHANG Z B, VASILIU T, LI F F, et al. Electrochemically driven efficient enzymatic conversion of CO<sub>2</sub> to formic acid with artificial cofactors[J]. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 2021, 52: 101679.
- [66] CORDAS C M, CAMPANIÇO M, BAPTISTA R, et al. Direct electrochemical reduction of carbon dioxide by a molybdenum-containing formate dehydrogenase[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2019, 196: 110694.
- [67] REDA T, PLUGGE C M, ABRAM N J, et al. Reversible interconversion of carbon dioxide and formate by an electroactive enzyme[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(31): 10654-10658.
- [68] ALVAREZ-MALMAGRO J, OLIVEIRA A R, GUTIÉRREZ-SÁNCHEZ C, et al. Bioelectrocatalytic activity of W-formate dehydrogenase covalently immobilized on functionalized gold and graphite electrodes[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2021, 13(10): 11891-11900.
- [69] BADIANI V M, COBB S J, WAGNER A, et al. Elucidating film loss and the role of hydrogen bonding of adsorbed redox enzymes by electrochemical quartz crystal microbalance analysis[J]. *ACS Catalysis*, 2022, 12(3): 1886-1897.
- [70] KUK S K, GOPINATH K, SINGH R K, et al. NADH-free electroenzymatic reduction of CO<sub>2</sub> by conductive hydrogel-conjugated formate dehydrogenase[J]. *ACS Catalysis*, 2019, 9(6): 5584-5589.
- [71] SAKAI K, KITAZUMI Y, SHIRAI O, et al. Efficient bioelectrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction on gas-diffusion-type biocathode with tungsten-containing formate dehydrogenase [J]. *Electrochemistry Communications*, 2016, 73: 85-88.
- [72] LI W J, GAO Y X, SUN X A, et al. Direct detection of a single [4Fe-4S]cluster in a tungsten-containing enzyme: electrochemical conversion of CO<sub>2</sub> into formate by formate dehydrogenase[J]. *Carbon Energy*, 2023, 5(5): e304.
- [73] SOKOL K P, ROBINSON W E, OLIVEIRA A R, et al. Photoreduction of CO<sub>2</sub> with a formate dehydrogenase driven by photosystem II using a semi-artificial Z-scheme architecture [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(48): 16418-16422.
- [74] MILLER M, ROBINSON W E, OLIVEIRA A R, et al. Interfacing formate dehydrogenase with metal oxides for the reversible electrocatalysis and solar-driven reduction of carbon dioxide[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(14): 4601-4605.
- [75] EDWARDES MOORE E, ANDREI V, OLIVEIRA A R, et al. A semi-artificial photoelectrochemical tandem leaf with a CO<sub>2</sub>-to-formate efficiency approaching 1%[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(50): 26303-26307.
- [76] LAM E, MILLER M, LINLEY S, et al. Comproportionation of CO<sub>2</sub> and cellulose to formate using a floating semiconductor-enzyme photoreforming catalyst[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(20): e202215894.
- [77] KUK S K, SINGH R K, NAM D H, et al. Photoelectrochemical reduction of carbon dioxide to methanol through a highly efficient enzyme cascade[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017, 56(14): 3827-3832.

- [78] ZHANG Z B, LI J J, JI M B, et al. Encapsulation of multiple enzymes in a metal-organic framework with enhanced electroenzymatic reduction of CO<sub>2</sub> to methanol[J]. *Green Chemistry*, 2021, 23(6): 2362-2371.
- [79] STRIPP S T, DUFFUS B R, FOURMOND V, et al. Second and outer coordination sphere effects in nitrogenase, hydrogenase, formate dehydrogenase, and CO dehydrogenase[J]. *Chemical Reviews*, 2022, 122(14): 11900-11973.
- [80] BOYINGTON J C, GLADYSHEV V N, KHANGULOV S V, et al. Crystal structure of formate dehydrogenase H: catalysis involving Mo, molybdopterin, selenocysteine, and an Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> cluster[J]. *Science*, 1997, 275(5304): 1305-1308.
- [81] RADON C, MITTELSTÄDT G, DUFFUS B R, et al. Cryo-EM structures reveal intricate Fe-S cluster arrangement and charging in *Rhodobacter capsulatus* formate dehydrogenase[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 1912.
- [82] STEINHILPER R, HÖFF G, HEIDER J, et al. Structure of the membrane-bound formate hydrogenlyase complex from *Escherichia coli*[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 5395.
- [83] DIETRICH H M, RIGHETTO R D, KUMAR A, et al. Membrane-anchored HDCR nanowires drive hydrogen-powered CO<sub>2</sub> fixation[J]. *Nature*, 2022, 607(7920): 823-830.
- [84] JOHNSON M K, REES D C, ADAMS M W W. Tungstoenzymes [J]. *Chemical Reviews*, 1996, 96(7): 2817-2840.
- [85] SZCZESNY J, RUFF A, OLIVEIRA A R, et al. Electroenzymatic CO<sub>2</sub> fixation using redox polymer/enzyme-modified gas diffusion electrodes[J]. *ACS Energy Letters*, 2020, 5(1): 321-327.
- [86] COBB S J, DHARANI A M, OLIVEIRA A R, et al. Carboxysome-inspired electrocatalysis using enzymes for the reduction of CO<sub>2</sub> at low concentrations[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(26): e202218782.
- [87] ADACHI T, KITAZUMI Y, SHIRAI O, et al. Construction of a bioelectrochemical formate generating system from carbon dioxide and dihydrogen[J]. *Electrochemistry Communications*, 2018, 97: 73-76.
- [88] GAO Y X, LI W J, SUN X A, et al. Boosting the performance of formate dehydrogenase by silver nanoclusters for photoreduction of CO<sub>2</sub> to formate[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2022, 10(45): 14888-14896.
- [89] BADIANI V M, CASADEVALL C, MILLER M, et al. Engineering electro- and photocatalytic carbon materials for CO<sub>2</sub> reduction by formate dehydrogenase[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, 144(31): 14207-14216.
- [90] SCHLAGER S, DUMITRU L M, HABERBAUER M, et al. Electrochemical reduction of carbon dioxide to methanol by direct injection of electrons into immobilized enzymes on a modified electrode[J]. *ChemSusChem*, 2016, 9(6): 631-635.
- [91] SEELAJAROEN H, BAKANDRITSOS A, OTYEPKA M, et al. Immobilized enzymes on graphene as nanobiocatalyst[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 12(1): 250-259.
- [92] DO VALLE GOMES M Z, MASDEU G, EIRING P, et al. Improved biocatalytic cascade conversion of CO<sub>2</sub> to methanol by enzymes Co-immobilized in tailored siliceous mesostructured cellular foams[J]. *Catalysis Science & Technology*, 2021, 11(21): 6952-6959.
- [93] JEOUNG J H, MARTINS B M, DOBBEK H. Carbon monoxide dehydrogenases[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2019, 1876: 37-54.
- [94] BREGLIA R, ARRIGONI F, SENSI M, et al. First-principles calculations on Ni, Fe-containing carbon monoxide dehydrogenases reveal key stereoelectronic features for binding and release of CO<sub>2</sub> to/from the C-cluster[J]. *Inorganic Chemistry*, 2021, 60(1): 387-402.
- [95] CONTALDO U, GUIGLIARELLI B, PERARD J, et al. Efficient electrochemical CO<sub>2</sub>/CO interconversion by an engineered carbon monoxide dehydrogenase on a gas-diffusion carbon nanotube-based bioelectrode[J]. *ACS Catalysis*, 2021, 11(9): 5808-5817.
- [96] SHIN W, LEE S H, SHIN J W, et al. Highly selective electrocatalytic conversion of CO<sub>2</sub> to CO at -0.57 V (NHE) by carbon monoxide dehydrogenase from *Moorella thermoacetica* [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125(48): 14688-14689.
- [97] PARKIN A, SERAVALLI J, VINCENT K A, et al. Rapid and efficient electrocatalytic CO<sub>2</sub>/CO interconversions by carboxydotherrmus hydrogenoformans CO dehydrogenase I on an electrode[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129(34): 10328-10329.
- [98] WANG V C C, CAN M, PIERCE E, et al. A unified electrocatalytic description of the action of inhibitors of nickel carbon monoxide dehydrogenase[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(6): 2198-2206.
- [99] DILWORTH M J, EADY R R, ROBSON R L, et al. Ethane formation from acetylene as a potential test for vanadium nitrogenase *in vivo*[J]. *Nature*, 1987, 327(6118): 167-168.
- [100] SCHNEIDER K, GOLLAN U, DROTTBOOM M, et al. Comparative biochemical characterization of the iron-only nitrogenase and the molybdenum nitrogenase from *Rhodobacter capsulatus*[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1997, 244(3): 789-800.
- [101] KHADKA N, DEAN D R, SMITH D, et al. CO<sub>2</sub> reduction catalyzed by nitrogenase: pathways to formate, carbon monoxide, and methane[J]. *Inorganic Chemistry*, 2016, 55(17): 8321-8330.
- [102] SEEFELDT L C, HOFFMAN B M, DEAN D R. Mechanism of Mo-dependent nitrogenase[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2009, 78: 701-722.

- [103] REBELEIN J G, HU Y L, RIBBE M W. Widening the product profile of carbon dioxide reduction by vanadium nitrogenase [J]. *ChemBioChem*, 2015, 16(14): 1993-1996.
- [104] HU B, HARRIS D F, DEAN D R, et al. Electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction catalyzed by nitrogenase MoFe and FeFe proteins[J]. *Bioelectrochemistry*, 2018, 120: 104-109.
- [105] CAI R, MILTON R D, ABDELLAOUI S, et al. Electroenzymatic C—C bond formation from CO<sub>2</sub>[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(15): 5041-5044.
- [106] ERB T J. Carboxylases in natural and synthetic microbial pathways[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(24): 8466-8477.
- [107] ÜNLÜ A, DUMAN-ÖZDAMAR Z E, ÇALOĞLU B, et al. Enzymes for efficient CO<sub>2</sub> conversion[J]. *The Protein Journal*, 2021, 40(4): 489-503.
- [108] DESSÌ P, ROVIRA-ALSINA L, SÁNCHEZ C, et al. Microbial electrosynthesis: towards sustainable biorefineries for production of green chemicals from CO<sub>2</sub> emissions[J]. *Biotechnology Advances*, 2021, 46: 107675.
- [109] VASSILEV I, HERNANDEZ P A, BATLLE-VILANOVA P, et al. Microbial electrosynthesis of isobutyric, butyric, caproic acids, and corresponding alcohols from carbon dioxide[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(7): 8485-8493.
- [110] MARSHALL C W, ROSS D E, FICHOT E B, et al. Electrosynthesis of commodity chemicals by an autotrophic microbial community[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(23): 8412-8420.
- [111] MARSHALL C W, ROSS D E, FICHOT E B, et al. Long-term operation of microbial electrosynthesis systems improves acetate production by autotrophic microbiomes[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(11): 6023-6029.
- [112] PATIL S A, ARENDS J B A, VANWONTERGHEM I, et al. Selective enrichment establishes a stable performing community for microbial electrosynthesis of acetate from CO<sub>2</sub> [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(14): 8833-8843.
- [113] JOURDIN L, FREGUIA S, DONOSE B C, et al. A novel carbon nanotube modified scaffold as an efficient biocathode material for improved microbial electrosynthesis[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2014, 2(32): 13093-13102.
- [114] MOHANAKRISHNA G, SEELAM J S, VANBROEKHOVEN K, et al. An enriched electroactive homoacetogenic biocathode for the microbial electrosynthesis of acetate through carbon dioxide reduction[J]. *Faraday Discussions*, 2015, 183: 445-462.
- [115] JOURDIN L, GRIEGER T, MONETTI J, et al. High acetic acid production rate obtained by microbial electrosynthesis from carbon dioxide[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(22): 13566-13574.
- [116] LABELLE E V, MARSHALL C W, GILBERT J A, et al. Influence of acidic pH on hydrogen and acetate production by an electrosynthetic microbiome[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109935.
- [117] LABELLE E V, MAY H D. Energy efficiency and productivity enhancement of microbial electrosynthesis of acetate[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 756.
- [118] JOURDIN L, FREGUIA S, FLEXER V, et al. Bringing high-rate, CO<sub>2</sub>-based microbial electrosynthesis closer to practical implementation through improved electrode design and operating conditions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(4): 1982-1989.
- [119] ROVIRA-ALSINA L, PERONA-VICO E, BAÑERAS L, et al. Thermophilic bio-electro CO<sub>2</sub> recycling into organic compounds[J]. *Green Chemistry*, 2020, 22(9): 2947-2955.
- [120] NEVIN K P, WOODARD T L, FRANKS A E, et al. Microbial electrosynthesis: feeding microbes electricity to convert carbon dioxide and water to multicarbon extracellular organic compounds[J]. *mBio*, 2010, 1(2): e00103-10.
- [121] CHEN L F, TREMBLAY P L, MOHANTY S, et al. Electrosynthesis of acetate from CO<sub>2</sub> by a highly structured biofilm assembled with reduced graphene oxide-tetraethylene pentamine[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2016, 4(21): 8395-8401.
- [122] ARYAL N, HALDER A, TREMBLAY P L, et al. Enhanced microbial electrosynthesis with three-dimensional graphene functionalized cathodes fabricated *via* solvothermal synthesis [J]. *Electrochimica Acta*, 2016, 217: 117-122.
- [123] ARYAL N, TREMBLAY P L, XU M Y, et al. Highly conductive poly(3,4-ethylenedioxythiophene) polystyrene sulfonate polymer coated cathode for the microbial electrosynthesis of acetate from carbon dioxide[J]. *Frontiers in Energy Research*, 2018, 6: 72.
- [124] ARYAL N, WAN L L, OVERGAARD M H, et al. Increased carbon dioxide reduction to acetate in a microbial electrosynthesis reactor with a reduced graphene oxide-coated copper foam composite cathode[J]. *Bioelectrochemistry*, 2019, 128: 83-93.
- [125] KRIGE A, ROVA U, CHRISTAKOPOULOS P. 3D bioprinting on cathodes in microbial electrosynthesis for increased acetate production rate using *Sporomusa ovata*[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5): 106189.
- [126] BIAN B, ALQAHTANI M F, KATURI K P, et al. Porous nickel hollow fiber cathodes coated with CNTs for efficient microbial electrosynthesis of acetate from CO<sub>2</sub> using *Sporomusa ovata*[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2018, 6(35): 17201-17211.
- [127] RODRIGUES R M, GUAN X, IÑIGUEZ J A, et al. Perfluorocarbon nanoemulsion promotes the delivery of reducing equivalents for electricity-driven microbial CO<sub>2</sub>

- reduction[J]. *Nature Catalysis*, 2019, 2(5): 407-414.
- [128] ROY M, YADAV R, CHIRANJEEVI P, et al. Direct utilization of industrial carbon dioxide with low impurities for acetate production *via* microbial electrosynthesis[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 320(Pt A): 124289.
- [129] YU L P, YUAN Y, TANG J H, et al. Thermophilic *Moorella thermoautotrophica*-immobilized cathode enhanced microbial electrosynthesis of acetate and formate from CO<sub>2</sub>[J]. *Bioelectrochemistry*, 2017, 117: 23-28.
- [130] BATLLE-VILANOVA P, GANIGUÉ R, RAMIÓ-PUJOL S, et al. Microbial electrosynthesis of butyrate from carbon dioxide: production and extraction[J]. *Bioelectrochemistry*, 2017, 117: 57-64.
- [131] RAES S M T, JOURDIN L, BUISMAN C J N, et al. Continuous long-term bioelectrochemical chain elongation to butyrate[J]. *ChemElectroChem*, 2017, 4(2): 386-395.
- [132] JOURDIN L, RAES S M T, BUISMAN C J N, et al. Critical biofilm growth throughout unmodified carbon felts allows continuous bioelectrochemical chain elongation from CO<sub>2</sub> up to caproate at high current density[J]. *Frontiers in Energy Research*, 2018, 6: 7.
- [133] GAVILANES J, REDDY C N, MIN B. Microbial electrosynthesis of bioalcohols through reduction of high concentrations of volatile fatty acids[J]. *Energy & Fuels*, 2019, 33(5): 4264-4271.
- [134] LI X H, CHEN S, LIANG D W, et al. Low-grade heat energy driven microbial electrosynthesis for ethanol and acetate production from CO<sub>2</sub> reduction[J]. *Journal of Power Sources*, 2020, 477: 228990.
- [135] CHENG S A, XING D F, CALL D F, et al. Direct biological conversion of electrical current into methane by electromethanogenesis[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(10): 3953-3958.
- [136] JIANG Y, SU M, ZHANG Y, et al. Bioelectrochemical systems for simultaneously production of methane and acetate from carbon dioxide at relatively high rate[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013, 38(8): 3497-3502.
- [137] VAN EERTEN-JANSEN M C A A, JANSEN N C, PLUGGE C M, et al. Analysis of the mechanisms of bioelectrochemical methane production by mixed cultures[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2015, 90(5): 963-970.
- [138] LIU D D, ROCA-PUIGROS M, GEPPERT F, et al. Granular carbon-based electrodes as cathodes in methane-producing bioelectrochemical systems[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2018, 6: 78.
- [139] ANWER A H, KHAN N, UMAR M F, et al. Electrodeposited hybrid biocathode-based CO<sub>2</sub> reduction *via* microbial electrocatalysis to biofuels[J]. *Membranes*, 2021, 11(3): 223.
- [140] ARENDS J B A, PATIL S A, ROUME H, et al. Continuous long-term electricity-driven bioproduction of carboxylates and isopropanol from CO<sub>2</sub> with a mixed microbial community[J]. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*, 2017, 20: 141-149.
- [141] BLASCO-GÓMEZ R, RAMIÓ-PUJOL S, BAÑERAS L, et al. Unravelling the factors that influence the bio-electrorecycling of carbon dioxide towards biofuels[J]. *Green Chemistry*, 2019, 21(3): 684-691.
- [142] MA L Q, FANG Z, WANG Y Z, et al. Photo-driven highly efficient one-step CO<sub>2</sub> biomethanation with engineered photo-synthetic bacteria *Rhodospseudomonas palustris*[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2020, 8(26): 9616-9621.
- [143] NEVIN K P, HENSLEY S A, FRANKS A E, et al. Electrosynthesis of organic compounds from carbon dioxide is catalyzed by a diversity of acetogenic microorganisms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(9): 2882-2886.
- [144] LEHTINEN T, EFIMOVA E, TREMBLAY P L, et al. Production of long chain alkyl esters from carbon dioxide and electricity by a two-stage bacterial process[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 243: 30-36.
- [145] BLANCHET E, DUQUENNE F, RAFRAFI Y, et al. Importance of the hydrogen route in up-scaling electrosynthesis for microbial CO<sub>2</sub> reduction[J]. *Energy & Environmental Science*, 2015, 8(12): 3731-3744.
- [146] SHI X C, TREMBLAY P L, WAN L L, et al. Improved robustness of microbial electrosynthesis by adaptation of a strict anaerobic microbial catalyst to molecular oxygen[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 754: 142440.
- [147] KRACKE F, VIRDIS B, BERNHARDT P V, et al. Redox dependent metabolic shift in *Clostridium autoethanogenum* by extracellular electron supply[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2016, 9: 249.
- [148] LIU H X, SONG T S, FEI K Q, et al. Microbial electrosynthesis of organic chemicals from CO<sub>2</sub> by *Clostridium scatologenes* ATCC 25775<sup>T</sup>[J]. *Bioresources and Bioprocessing*, 2018, 5: 7.
- [149] BAJRACHARYA S, TER HEIJNE A, DOMINGUEZ BENETTON X, et al. Carbon dioxide reduction by mixed and pure cultures in microbial electrosynthesis using an assembly of graphite felt and stainless steel as a cathode[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 195: 14-24.
- [150] WANG G R, HUANG Q, SONG T S, et al. Enhancing microbial electrosynthesis of acetate and butyrate from CO<sub>2</sub> reduction involving engineered *Clostridium ljungdahlii* with a nickel-phosphide-modified electrode[J]. *Energy & Fuels*, 2020, 34(7): 8666-8675.
- [151] HA B N, PHAM D M, MASUDA D, et al. Humin-promoted microbial electrosynthesis of acetate from CO<sub>2</sub> by *Moorella thermoacetica*[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2022,

- 119(12): 3487-3496.
- [152] CHEN S S, FANG Y L, JING X Y, et al. Enhanced electrosynthesis performance of *Moorella thermoautotrophica* by improving cell permeability[J]. Bioelectrochemistry, 2018, 121: 151-159.
- [153] SAKIMOTO K K, WONG A B, YANG P D. Self-photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar-to-chemical production[J]. Science, 2016, 351(6268): 74-77.
- [154] ZHANG H, LIU H, TIAN Z Q, et al. Bacteria photosensitized by intracellular gold nanoclusters for solar fuel production[J]. Nature Nanotechnology, 2018, 13(10): 900-905.
- [155] CHEN H, LI J W, FAN Q C, et al. A feasible strategy for microbial electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction via whole-cell-packed and exogenous-mediator-free rGO/*Shewanella* biohydrogel[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 460: 141863.
- [156] WANG K, DA Y Y, BI H R, et al. A one-carbon chemicals conversion strategy to produce precursor of biofuels with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Renewable Energy, 2023, 208: 331-340.
- [157] LI C F, YIN L J, WANG J W, et al. Light-driven biosynthesis of volatile, unstable and photosensitive chemicals from CO<sub>2</sub>[J/OL]. Nature Synthesis, 2023[2023-06-01]. <https://www.nature.com/articles/s44160-023-00331-5>.
- [158] SUO D, FANG Z, YU Y Y, et al. Synthetic curli enables efficient microbial electrocatalysis with stainless-steel electrode [J]. AIChE Journal, 2020, 66(4): e16897.
- [159] MOSALI V S S, ZHANG X L, ZHANG Y, et al. Electrocatalytic CO<sub>2</sub> reduction to formate on Cu based surface alloys with enhanced selectivity[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2019, 7(24): 19453-19462.
- [160] KUHL K P, HATSUKADE T, CAVE E R, et al. Electrocatalytic conversion of carbon dioxide to methane and methanol on transition metal surfaces[J]. Journal of the American Chemical Society, 2014, 136(40): 14107-14113.
- [161] CHEN X Y, CHEN J F, ALGHORAIBI N M, et al. Electrochemical CO<sub>2</sub>-to-ethylene conversion on polyamine-incorporated Cu electrodes[J]. Nature Catalysis, 2021, 4(1): 20-27.
- [162] KIM S, SHIN D, PARK J, et al. Grain boundary-rich copper nanocatalysts generated from metal-organic framework nanoparticles for CO<sub>2</sub>-to-C<sub>2+</sub> electroconversion[J]. Advanced Science, 2023, 10(9): 2207187.
- [163] NAVARRO-JAÉN S, VIRGINIE M, BONIN J, et al. Highlights and challenges in the selective reduction of carbon dioxide to methanol[J]. Nature Reviews Chemistry, 2021, 5(8): 564-579.
- [164] WANG C, LIU Y P, REN H A, et al. Diminishing the uncoordinated N species in Co-N-C catalysts toward highly efficient electrochemical CO<sub>2</sub> reduction[J]. ACS Catalysis, 2022, 12(4): 2513-2521.
- [165] LIEW F E, NOGLE R, ABDALLA T, et al. Carbon-negative production of acetone and isopropanol by gas fermentation at industrial pilot scale[J]. Nature Biotechnology, 2022, 40(3): 335-344.
- [166] ZHENG T T, ZHANG M L, WU L H, et al. Upcycling CO<sub>2</sub> into energy-rich long-chain compounds via electrochemical and metabolic engineering[J]. Nature Catalysis, 2022, 5(5): 388-396.
- [167] HANN E C, OVERA S, HARLAND-DUNAWAY M, et al. A hybrid inorganic-biological artificial photosynthesis system for energy-efficient food production[J]. Nature Food, 2022, 3(6): 461-471.
- [168] ZHANG P, CHEN K N, XU B, et al. Chem-bio interface design for rapid conversion of CO<sub>2</sub> to bioplastics in an integrated system[J]. Chem, 2022, 8(12): 3363-3381.
- [169] HAAS T, KRAUSE R, WEBER R, et al. Technical photosynthesis involving CO<sub>2</sub> electrolysis and fermentation[J]. Nature Catalysis, 2018, 1(1): 32-39.
- [170] CHEN X L, CAO Y X, LI F, et al. Enzyme-assisted microbial electrosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate) via CO<sub>2</sub> bioreduction by engineered *Ralstonia eutropha*[J]. ACS Catalysis, 2018, 8(5): 4429-4437.
- [171] PAUL C E, HOLLMANN F. A survey of synthetic nicotinamide cofactors in enzymatic processes[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(11): 4773-4778.
- [172] DI SPIRIDIONE C, ARESTA M, DIBENEDETTO A. Improving the enzymatic cascade of reactions for the reduction of CO<sub>2</sub> to CH<sub>3</sub>OH in water: from enzymes immobilization strategies to cofactor regeneration and cofactor suppression[J]. Molecules, 2022, 27(15): 4913.
- [173] IMMANUEL S, SIVASUBRAMANIAN R, GUL R, et al. Recent progress and perspectives on electrochemical regeneration of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) [J]. Chemistry-an Asian Journal, 2020, 15(24): 4256-4270.
- [174] MORRISON C S, ARMIGER W B, DODDS D R, et al. Improved strategies for electrochemical 1,4-NAD(P)H<sub>2</sub> regeneration: a new era of bioreactors for industrial biocatalysis [J]. Biotechnology Advances, 2018, 36(1): 120-131.
- [175] CASTAÑEDA-LOSADA L, ADAM D, PACZIA N, et al. Bioelectrocatalytic cofactor regeneration coupled to CO<sub>2</sub> fixation in a redox-active hydrogel for stereoselective C—C bond formation[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2021, 60(38): 21056-21061.
- [176] WU R R, LI F, CUI X Y, et al. Enzymatic electrosynthesis of glycine from CO<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub>[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2023, 62(14): e202218387.
- [177] TORELLA J P, GAGLIARDI C J, CHEN J S, et al. Efficient solar-to-fuels production from a hybrid microbial-water-splitting catalyst system [J]. Proceedings of the National

- Academy of Sciences, 2015, 112(8): 2337-2342.
- [178] CAI T, SUN H B, QIAO J, et al. Cell-free chemoenzymatic starch synthesis from carbon dioxide[J]. *Science*, 2021, 373(6562): 1523-1527.
- [179] YANG X Y, JIANG Y F, ZOU R, et al. Green electricity-driven simultaneous ammonia recovery and *in situ* upcycling for microbial protein production[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 430(Pt\_2): 132890.
- [180] LIN L, HUANG H N, ZHANG X, et al. Hydrogen-oxidizing bacteria and their applications in resource recovery and pollutant removal[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 835: 155559.
- [181] WILDE E. Untersuchungen über wachstum und speicherstoffsynthese von hydrogenomonas[J/OL]. *Archiv Für Mikrobiologie*, 1962, 43(2): 109-137[2023-06-01]. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00406429>.
- [182] MA Z, LIU D, LIU M X, et al. From CO<sub>2</sub> to high value-added products: advances on carbon sequestration by *Ralstonia eutropha* H16[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2021, 66(33): 4218-4230.
- [183] BAJRACHARYA S, KRIGE A, MATSAKAS L, et al. Dual cathode configuration and headspace gas recirculation for enhancing microbial electrosynthesis using *Sporomusa ovata* [J]. *Chemosphere*, 2022, 287(Pt 3): 132188.
- [184] LIU C, COLÓN B C, ZIESACK M, et al. Water splitting-biosynthetic system with CO<sub>2</sub> reduction efficiencies exceeding photosynthesis[J]. *Science*, 2016, 352(6290): 1210-1213.
- [185] TEETZ N, HOLTMANN D, HARNISCH F, et al. Upgrading kolbe electrolysis — Highly efficient production of green fuels and solvents by coupling biosynthesis and electrosynthesis[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(50): e202210596.



**通讯作者:** 张玲玲(1988—),女,研究员,博士生导师。研究方向为酶工程、酶电合成和酶燃料电池等。  
E-mail: zhangll@tib.cas.cn



**第一作者:** 刘伟松(1997—),男,博士研究生。研究方向为酶电催化 CO<sub>2</sub> 还原。  
E-mail: liuws@tib.cas.cn