

氢能或电能驱动的人工光合作用固定 CO₂ 合成糖

黄卫东

(中国科学技术大学地球与空间科学学院,安徽合肥 230026)

摘要:基于酶工程原理,通过组合自然界存在的酶促生化反应,提出自然界不存在的人工光合作用暗反应途径,只需要使用 H₂ 或电再生 NADH 驱动转化 CO₂ 为糖或淀粉,避开了人工光合磷酸化再生 ATP 难题,而且理论效率高.这种使用能源人工合成糖的方法,也是粮食生产工业化的一种潜在方法,如果将其与太阳能光伏技术或产氢技术结合,就可以实现人工光合作用,利用太阳能将 CO₂ 转换为糖.

关键词:人工光合作用;暗反应;CO₂ 固定;糖合成

中图分类号:Q811 **文献标识码:**A **doi:**10.3969/j.issn.0253-2778.2011.05.013

Synthesis of sugar and fixation of CO₂ through artificial photosynthesis driven by hydrogen or electricity

HUANG Weidong

(School of Earth and Space Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstracts: The overall process of photosynthesis consists of two main phases, the so-called light and dark reactions, in which light energy is absorbed by chlorophyll molecules and transferred to regenerate NADH and ATP, then drive Calvin-Benson cycle to synthesize sugar. Due to the difficulty in artificial regeneration of ATP, artificial dark reaction pathways were thus proposed, which are based on the natural biochemical reactions catalyzed by enzymes, with which only NADH is needed to be regenerated from hydrogen or electricity for driving the dark reactions. ATP is thus not needed to be regenerated from photophosphorylation and the theoretical efficiency is improved. This provides an artificial sugar synthesis method from energy and CO₂, and may be a potential industrial process to produce sugar with energy. The solar energy may be used to convert CO₂ artificially to sugar if the pathway and photovoltaic or solar hydrogen technology is combined.

Key words: artificial photosynthesis; dark reaction; CO₂ fixation; synthesis of sugar

0 引言

光合作用^[1]是指植物和光合微生物吸收太阳能,将 CO₂ 和水转化为碳水化合物的过程.它包括叶绿素吸收太阳能,将光能转移到 NADPH 和 ATP

的光反应,以及利用 NADPH 和 ATP 驱动,转化 CO₂ 和水,形成碳水化合物的暗反应.由于化石燃料来自古代植物光合作用^[2],光合作用是当前人类食物和能量的主要来源,因而受到研究者的高度重视.

收稿日期:2010-10-29;修回日期:2011-04-21

基金项目:国家留学基金委基金(2008401951),安徽省科技攻关计划基金(07010302166)资助.

作者简介:黄卫东,男,1965年生,博士/副教授.研究方向:环境生物技术. E-mail: huangwd@ustc.edu.cn

自然界光合作用效率较低,理论上,植物光合作用最大效率仅为 4.6%~6.0%^[3],其主要原因包括^[3]:第一,叶绿素只能吸收占太阳入射光能量不到一半的 400~700 nm 波长光子;第二,每吸收 8 个光子能量,只能产生转化一个分子 CO₂ 所需要的 2 个 NADPH 分子和 3 个 ATP 分子,即使按照能量最低的红光光子能量计算,也只有 43% 的吸收能量转移到 NADPH 和 ATP 上,而其他波长较短,能量较高,实际效率更低;第三,植物通过卡尔文循环,每消耗 12 mol NADPH 和 18 mol ATP,才能合成 1 mol 葡萄糖,而 1 mol 葡萄糖氧化,释放的自由能仅为 2 873.6 kJ(高于燃烧释放的能量),因此,按照转化前后的自由能计算,卡尔文循环的热力学效率仅为 79%。此外,还有其他损失,如叶面对光的反射,细胞呼吸作用等^[3]。因此,发展人工光合作用,才能更好地提高光合作用效率。

广义上说,人工光合作用是指转化太阳能生产能源和各种化学品(如电和 H₂)的方法^[4]。人们发展的太阳能光伏电池^[5],将太阳能转化为电能,如多结砷化镓电池,效率达到 40%^[6],未来预计可以达到 60%^[5],预计太阳能催化热解产氢的效率也大于 20%^[7],远远超过自然界植物光合作用的能量效率。

在人工光合作用合成糖方面,采用光伏电池或光伏产氢获取的能量再生 NADPH 和 ATP,驱动光合作用暗反应 Calvin 循环合成糖^[4],可提高光吸收及再生 NADPH 的能量效率,从而提高人工光合作用效率,如果实现大规模工业化生产粮食,与传统农业相比,可以大幅度降低土地需要量和水资源消耗^[4]。但是,光合作用合成 ATP,是通过光合磷酸化来进行的^[1],目前人工光合磷酸化合成 ATP 的进展还很有限,最近的突破是第一次实现了人工光合作用产生 ATP 与 Calvin-Benson 循环的耦合^[8],但暗反应所消耗的 ATP 能量就接近产物糖的能量,考虑到植物 Calvin-Benson 循环中消耗的 ATP 所含有的能量仅相当于产物能量的 25%,其效率还很低。

此前,我们根据胞外酶工程原理,组合多种生物体内代谢反应,提出一种人工光合作用合成糖的暗反应路线^[9],不需要消耗 ATP,从而不需要合成 ATP。但是,该过程需要 21 种酶和 NADPH 及 ATP 催化,才能合成等摩尔单糖和乙醇,能量转移到单糖的热力学效率仅为 61%;将酒精氧化,再生 NADPH,可提高糖转化效率到 82%,由于需要 34 种酶和 6 种辅酶,增加了工业化大规模生产的难度。

本文进一步提出了由酶催化代谢反应组成的固定 CO₂,合成碳水化合物新途径,只需要电或 H₂ 再生 NADH,驱动合成糖,不需要消耗 ATP,其中最简单的途径,只需要 13 种酶,就能转化 CO₂ 为糖。在新途径中,每个生化反应都是自然界存在,而且在实验室内实验证实的反应,但是,总的转化途径是自然界不存在的,能够实现植物光合作用暗反应同样功能的新途径。如果采用 CO₂ 化学加氢合成甲醛,使用甲醛作为原料,只需要使用 11 种酶,不需要不稳定的 NADH 和 ATP,经过 11 步酶催化反应,就可以合成糖。

1 人工光合作用暗反应新途径

自然界光合作用暗反应,包括植物的 Calvin-Benson 循环,通过 Rubisco 酶固定 CO₂,还原磷酸戊糖循环合成糖^[1];光合微生物发展了 5 种固定 CO₂ 合成乙酰辅酶 A 的路径^[10],再将乙酰辅酶 A 转化为糖。这些途径均由 NAD(P)H 和 ATP 共同驱动。本文提出的人工光合作用新途径,由 NADH 单独驱动,将水和 CO₂ 合成为糖,如葡萄糖或淀粉,合成 1 mol 葡萄糖只需要 12 mol NADH,等于植物光合作用暗反应所需要的 NADH 数量,与植物光合作用同时还消耗 18 mol ATP 相比,我们提出的人工光合作用途径,不需要消耗 ATP,NADH 可由电解再生或 H₂ 还原再生。由电解再生 NADH 时,还与植物一样,同时产生氧气。总反应如下:

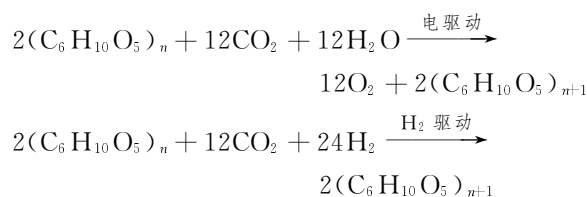
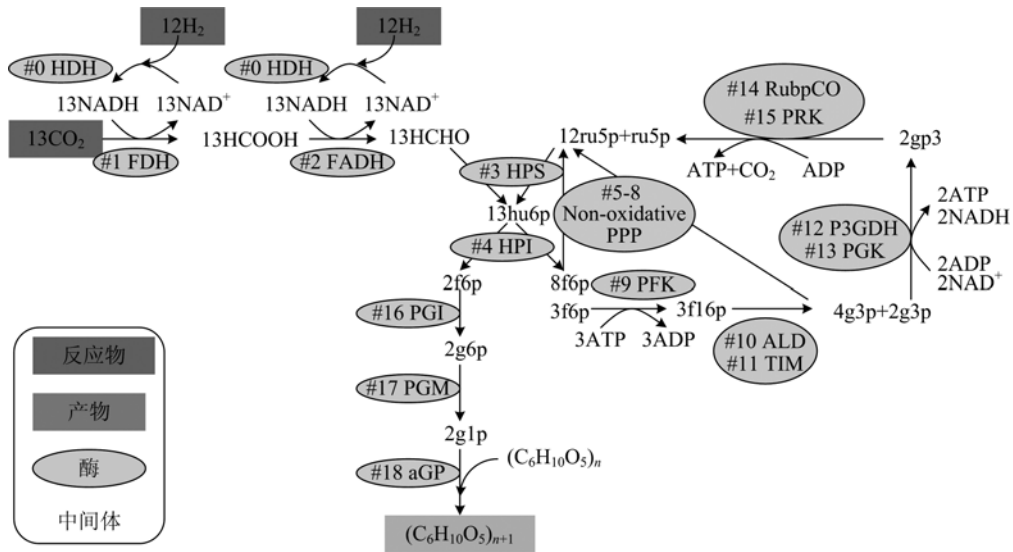


图 1 是第一种 H₂ 驱动人工光合作用途径示意图,总共使用了 19 种酶,催化了 20 步代谢反应,主要反应过程列于表 1。此前提出的路径^[9]是由磷酸甘油醛分解再生 ATP,副产乙醇,这使约 1/4 能量转化到乙醇上。虽然乙醇可进一步通过三羧酸循环分解再生 NADH,但是,这需要增加 13 种酶和 4 种辅酶,使系统需要 34 种酶、6 种辅酶,从而变得很复杂,中间产物增多。本方法是将 2 mol 磷酸甘油醛水解氧化产生磷酸甘油酸,再生 2 mol ATP,然后一步缩合磷酸甘油酸再生 1 mol ATP 和磷酸戊糖(简称磷酸甘油酸缩合途径),从而减少了酶和中间产物数量,使需要的酶数量减少到 19 种。



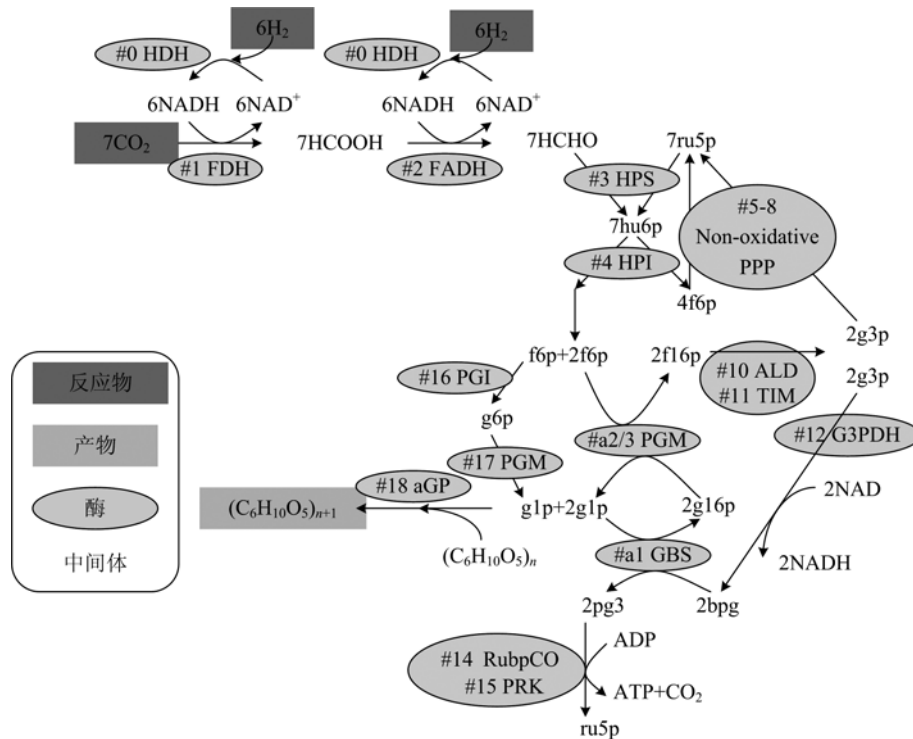
酶列于表 1. 中间产物: HCOOH, 甲酸; HCHO, 甲醛; ru5p, 5-磷酸核酮糖; hu6p, 6-磷酸 3-己酮糖; f6p, 6-磷酸果糖; f16p, 1,6-二磷酸果糖; g3p, 3-磷酸甘油醛; gp3, 3-磷酸甘油酸; g6p, 6-磷酸葡萄糖; g1p, 1-磷酸葡萄糖; Gn, 直链淀粉; non-oxidative PPP, 非氧化磷酸戊糖途径, 忽略了无机磷酸, H⁺ 和水

图 1 氢能驱动固定 CO₂ 人工光合作用途径(途径 1: 二磷酸甘油酸缩合途径)

Fig. 1 The artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen (bispospho glycerate condensation pathway)

由于上述方案需要 ATP 和各种磷酸脂参与合成糖, 它们容易水解, 从而消耗起催化作用的中间体, 增加了合成糖的能耗和成本, 因此, 我们提出了

一个能够增殖 ATP, 从而补充各种中间体的新路径(图 2), 与前述途径相比, 改变了再生二磷酸果糖途径.



与二磷酸甘油酸缩合途径不同的酶见表 2. 中间产物不同图 1 的如下:

g16p, 1,6-二磷酸葡萄糖; ga6p, 6-磷酸半乳糖; 省略无机磷酸, H⁺ 和水

图 2 氢能驱动固定 CO₂ 人工光合作用途径(途径 2: 二磷酸甘油酸合成途径)

Fig. 2 The artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen (bispospho glycerate synthesis pathway)

表 1 电或氢能驱动人工光合作用暗反应途径的反应和使用的酶(途径 1:二磷酸甘油酸缩合途径)
 Tab. 1 Reaction and enzyme in the the artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen
 (bisphospho glycerate condensation pathway)

序号	酶编号	酶名称	反 应	$\Delta_r G'^{\circ}$ /(kJ·m ⁻¹)
I. NADH 再生 ^[13-15]				
1 电解: $24\text{NAD}^+ + 24\text{H}_2\text{O} \rightarrow 24\text{NADH} + 12\text{O}_2 + 24\text{H}^+$				
2 氢还原: $24\text{NAD}^+ + 24\text{H}_2 \rightarrow 24\text{NADH} + 24\text{H}^+$				
#0	1.12.1.2	氢化酶(HDH)	$\text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NADH} + \text{O}_2 + \text{H}^+$ (电解)	219.4
	1.12.1.2	氢化酶(HDH)	$\text{NAD}^+ + \text{H}_2 \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	-17.82
II. 甲醛合成 ^[16-18] : $13\text{CO}_2 + 26\text{NADH} + 13\text{H}^+ \rightarrow 13\text{HCHO} + 26\text{NAD}^+$				
#1	1.2.1.2	甲酸脱氢酶(FDH)	$\text{CO}_2 + \text{NADH} \rightarrow \text{甲酸}(\text{HCOOH}) + \text{NAD}^+$	21.27
#2	1.2.1.46	甲醛脱氢酶(FADH)	$\text{甲酸} + \text{NADH} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{甲醛}(\text{HCHO}) + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$	41.00
III. 通过 5 磷酸核酮糖合成 6 磷酸果糖 ^[19-20] : $13\text{HCHO} + 13\text{ru5p} \rightarrow 13\text{f6p}$				
#3	4.1.2.43	6 磷酸己酮糖合成酶(HPS)	5-磷酸核酮糖(ru5p) + 甲醛 \rightarrow 6-磷酸己酮糖(hu6p)	-21.84
#4	5.3.1.27	6 磷酸己酮糖变构酶(HPI)	6-磷酸己酮糖(hu6p) \rightarrow 6-磷酸果糖(f6p)	-7.32
IV. 5 磷酸核酮糖再生 ^[1] : $8\text{f6p} + 4\text{g3p} \rightarrow 12\text{ru5p}$				
#5	2.2.1.1	转酮酶(TK)	6-磷酸果糖(f6p) + 3-磷酸甘油醛(g3p) \rightarrow 5-磷酸木酮糖(x5p) + 4-磷酸赤藓糖(e4p)	7.32
			7-磷酸景天庚酮糖(s7p) + 3-磷酸甘油醛(g3p) \rightarrow 5-磷酸木酮糖(xu5p) + 5-磷酸核糖(r5p)	-8.70
#6	2.2.1.2	醛酸转移酶(TAL)	6-磷酸果糖(f6p) + 4-磷酸赤藓糖(e4p) \rightarrow 7-磷酸景天庚酮糖(s7p) + 3-磷酸甘油醛(g3p)	7.32
#7	5.3.1.6	5 磷酸核糖异构酶(R5PI)	5-磷酸核糖(r5p) \rightarrow 5-磷酸核酮糖(ru5p)	2.59
#8	5.1.3.1	5 磷酸核酮糖差向酶(Ru5PE)	5-磷酸木酮糖(x5p) \rightarrow 5-磷酸核酮糖(ru5p)	0
V. 再生用于合成 5 磷酸核酮糖的 3 磷酸甘油醛 ^[1] : $3\text{f6p} + 3\text{ATP} \rightarrow 6\text{g3p} + 3\text{ADP}$				
#9	2.7.1.11	6 磷酸果糖激酶(PFK)	6-磷酸果糖(f6p) + ATP \rightarrow 1,6-二磷酸果糖(f16p) + ADP	-18.83
#10	4.1.2.13	二磷酸果糖酶(ALD)	1,6-二磷酸果糖(f16p) \rightarrow 3-磷酸甘油醛(g3p) + 磷酸二羟丙酮(dhap)	18.03
#11	5.3.1.1	磷酸丙糖异构酶(TIM)	磷酸二羟丙酮(dhap) \rightarrow 3-磷酸甘油醛(g3p)	6.11
VI. 将 3 磷酸甘油醛转化为 3 磷酸甘油酸,同时再生 1 摩尔 ATP ^[1, 21-22] : $2\text{g3p} + 2\text{Pi} + 2\text{ADP} + 2\text{NAD}^+ \leftrightarrow 2\text{gp3} + 2\text{ATP} + 2\text{NADH} + 2\text{H}^+$				
#12	1.2.1.12	3 磷酸甘油醛脱氢酶(G3PDH)	3-磷酸甘油醛(g3p) + NAD ⁺ + Pi \rightarrow 1,3-二磷酸甘油酸(bpg) + NADH	-1.51
#13	2.7.2.3	3 磷酸甘油酸激酶(PGK)	1,3-二磷酸甘油酸(bpg) + ADP \rightarrow 3-磷酸甘油酸(gp3) + ATP + H ⁺	-11.0
VII. 3 磷酸甘油酸转化为 5 磷酸核酮糖,再生 ATP ^[23] : $2\text{gp3} + \text{ADP} \rightarrow \text{Ru5P} + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$				
#14	4.1.1.39	二磷酸核酮糖羧化酶(RubpCO)	2 甘油酸-3-磷酸(gp3) + 2 H ⁺ \rightarrow 1,5-二磷酸核酮糖(rubp) + H ₂ O + CO ₂	26.02
#15	2.7.1.19	磷酸核酮糖激酶(PRK)	ADP + 1,5-二磷酸核酮糖(rubp) \rightarrow ATP + 5-磷酸核酮糖(ru5p)	17.55
VIII. 由 6 磷酸果糖合成糖 ^[1] : $2\text{f6p} + 2\text{G}_n \rightarrow 2\text{G}_{n+1} + 2\text{H}^+ + 2\text{P}_i$				
#16	5.3.1.9	磷酸葡萄糖异构酶(PGI)	6-磷酸果糖(f6p) \leftrightarrow 6-磷酸葡萄糖(g6p)	3.72
#17	5.4.2.2	葡萄糖磷酸变位酶(PGM)	6-磷酸葡萄糖(g6p) \rightarrow 1-磷酸葡萄糖(g1p)	0
#18	2.4.1.1	淀粉磷酸化酶(α GP)	$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n(\text{G}_n) + 1\text{-磷酸葡萄糖}(\text{g1p}) \rightarrow (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_{n+1}(\text{G}_{n+1}) + \text{P}_i + \text{H}^+$	5.54
总反应: $2(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n + 12\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} \rightarrow 12\text{O}_2 + 2(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_{n+1}$ (electricity)				6345.5
$2(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n + 12\text{CO}_2 + 24\text{H}_2 \rightarrow 2(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_{n+1}$				21.48

【注】 根据文献[11-12]数据计算自由能。
 总共 19 种酶,催化 20 个反应。

表 2 电或氢能驱动人工光合作用暗反应途径的反应和使用的酶(途径 2:二磷酸甘油酸合成途径)
Tab. 2 The reaction and enzyme in the artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen (bisphospho glycerate synthesis pathway)

序号	酶编号	酶名称	反 应	$\Delta rG'^{\circ}/(\text{kJ} \cdot \text{m}^{-1})$
# a1	2. 7. 1. 106	1,6-二磷酸葡萄糖合成酶(GBS)	1-磷酸葡萄糖(g1p)+1,3-二磷酸甘油酸(bpg)→1,6-二磷酸葡萄糖(g16p)+3-磷酸甘油酸(gp3)+H ⁺	6. 32
# a2	5. 4. 2. 2	磷酸葡萄糖变位酶(PGM)	6-磷酸果糖(f6p)+1,6-二磷酸葡萄糖(g16p)→1,6-二磷酸果糖(f16p)+6-磷酸半乳糖(ga6p)	0
# a3	5. 4. 2. 2	磷酸葡萄糖变位酶(PGM)	6-磷酸半乳糖(ga6p)⇌1-磷酸葡萄糖(g1p)	0

【注】 使用# a1—# a3 反应代替途径 1 中# 9 和# 13 两个反应,保留原# 9 反应,用于再生磷酸化中间体,补充水解损失,其余反应和使用的酶见表 1. 根据文献[11-12]数据计算自由能.

总共 19 个酶,催化 22 个反应,其中磷酸葡萄糖变位酶(5. 4. 2. 2)催化了 3 个反应,转酮酶(2. 2. 1. 1)催化了两个反应.

我们提出的新路径主要反应为:

①通过二磷酸葡萄糖合成酶催化 1-磷酸葡萄糖与二磷酸甘油酸作用,产生二磷酸葡萄糖(g16p)和磷酸甘油酸^[23];

②二磷酸葡萄糖再通过磷酸葡萄糖变位酶催化,与磷酸果糖反应,再生二磷酸果糖^[24-25].

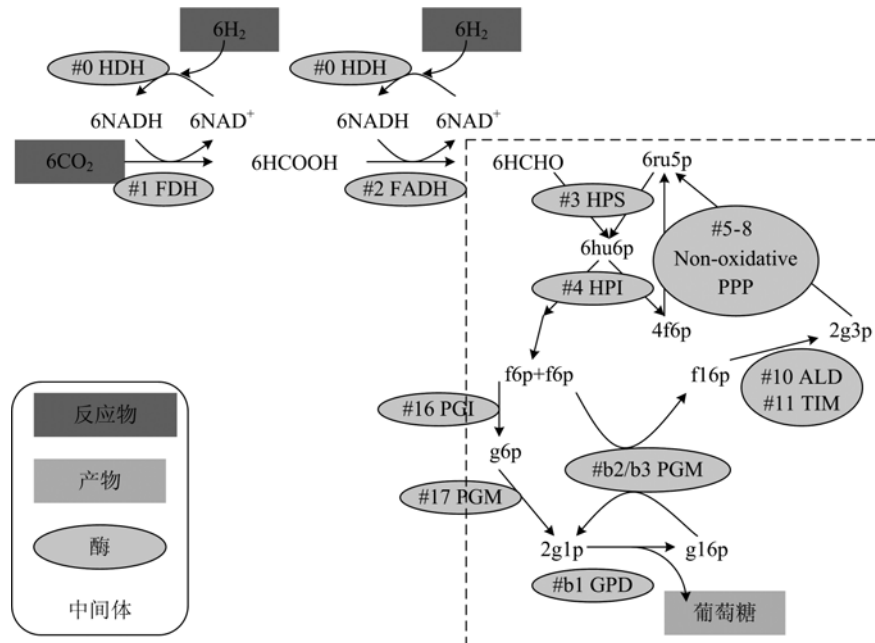
副产物 6-磷酸半乳糖在该酶催化下,转变为 6-磷酸葡萄糖^[24-25].

其他过程均与前面途径相同,这个循环过程是通过二磷酸甘油酸合成二磷酸果糖,简称为二磷酸甘油酸合成途径,产糖主反应不需要消耗 ATP 来合成二磷酸果糖,副产物 ATP 可用于磷酸化,补充

磷酸脂类中间产物水解带来的损耗,从而维持系统运行,又可称为 ATP 增殖途径. 该方案需要 19 种酶,催化 22 种反应,包括一个用于催化补充合成二磷酸果糖(表 1 中反应# 9)的 6-磷酸果糖激酶,由于各种中间产物磷酸糖脂是相互循环再生的,只要再生一种中间体,如二磷酸果糖,就可以弥补各种磷酸脂水解带来的影响.

我们提出的第三种转化途径(图 3),同样改变二磷酸果糖再生过程,产物是葡萄糖,其反应见表 1 和表 3,包括:

①2 分子 1-磷酸葡萄糖在歧化酶作用下,产生葡萄糖和二磷酸葡萄糖^[23];



与二磷酸甘油酸缩合途径不同的酶见表 3. 中间产物同图 1 和图 2;省略无机磷酸, H⁺ 和水

图 3 氢能驱动固定 CO₂ 人工光合作用途径(磷酸葡萄糖歧化途径)

Fig. 3 The artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen (glucose phosphate dismutation pathway)

表 3 电或氢能驱动人工光合作用暗反应途径的反应和使用的酶(途径 3:磷酸葡萄糖歧化途径)

Tab. 3 The reaction and enzyme in the artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen (glucose phosphate dismutation pathway)

序号	酶编号	酶名称	反 应	$\Delta_r G^{\circ}/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$
# b1	2.7.1.41	1-磷酸葡萄糖歧化酶(GPD)	2-葡萄糖-1-磷酸(g1p)→1,6-二磷酸葡萄糖(g16p)+葡萄糖	-2.62
# b2	5.4.2.2	磷酸葡萄糖变位酶(PGM)	6-磷酸果糖(f6p)+1,6-二磷酸葡萄糖(g16p)→1,6-二磷酸果糖(f16p)+6-磷酸半乳糖(ga6p)	0
# b3	5.4.2.2	磷酸葡萄糖变位酶(PGM)	6-磷酸半乳糖(ga6p)→1-磷酸葡萄糖(g1p)	0

【注】使用上述反应代替途径 1 中 #9, #12—#15, #18 反应,其余反应和使用的酶同表 1. 根据文献[11-12]数据计算自由能. 总共 14 种酶,催化 17 种反应.

表 4 电或氢能驱动人工光合作用暗反应途径的反应和使用的酶(固定 CO₂ 的磷酸戊糖途径)Tab. 4 The reaction and enzyme in the artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen (glucose phosphate dismutation and phosphate pentose to fix CO₂ pathway)

序号	酶编号	酶名称	反 应	$\Delta_r G^{\circ}/(\text{kJ} \cdot \text{m}^{-1})$
# c1	1.1.1.44	磷酸葡萄糖酸脱氢酶(PGD)	NAD(P)H + 5-磷酸核酮糖(ru5p) + CO ₂ → NAD(P) ⁺ + 6-磷酸葡萄糖酸(6pg)	5.54
# c2	3.1.1.31	6-磷酸葡萄糖酸内酯酶(PGL)	6-磷酸葡萄糖酸(6pg) + H ⁺ → 6-磷酸葡萄糖酸内酯(g16p) + H ₂ O	22.93
# c3	1.1.1.49	6-磷酸葡萄糖脱氢酶(GPD)	6-磷酸葡萄糖酸内酯(g16p) + NAD(P)H + H ⁺ → 6-磷酸葡萄糖(g6p) + NAD(P) ⁺	8.37

【注】使用上述反应代替途径 3 中 #1—#4 反应,另途径 1 中反应 #16 将反向进行,其余反应和使用的酶同表 1 和表 3. 总共 15 种酶,催化 16 种反应.

②二磷酸葡萄糖再通过磷酸葡萄糖变位酶催化,与磷酸果糖反应,再生二磷酸果糖^[24-25];这个途径是通过二磷酸葡萄糖歧化再生二磷酸果糖,简称为磷酸葡萄糖歧化途径,整个过程,不需要 ATP 参与,从而消除了 ATP 水解带来的影响. 总共只需要 14 种酶和 NADH 参与催化,进一步简化了人工光合作用暗反应途径.

在上述 3 种方案中,我们还可以在磷酸葡萄糖酸脱氢酶催化下,直接将 CO₂ 与 5-磷酸戊糖反应,产生 6-磷酸葡萄糖酸(pg6)^[23, 25-26],6-磷酸葡萄糖酸再经过脱水内酯化^[23, 27]和 NADH 还原,生成 6-磷酸葡萄糖^[23],如表 4,代替上述 3 种方案中通过合成甲醛来固定 CO₂,以及甲醛与磷酸戊糖反应,生成磷酸己糖.

采用 CO₂ 直接加成到磷酸戊糖上,可以避免有毒的中间产物甲醛,适合生产作为食品的糖(图 4 是替代途径 3 情况). 简称固定 CO₂ 的磷酸戊糖途径. 这个途径只需要使用 3 种酶固定 CO₂(表 4),而采用甲醛作为中间体固定 CO₂,需要 4 种酶.

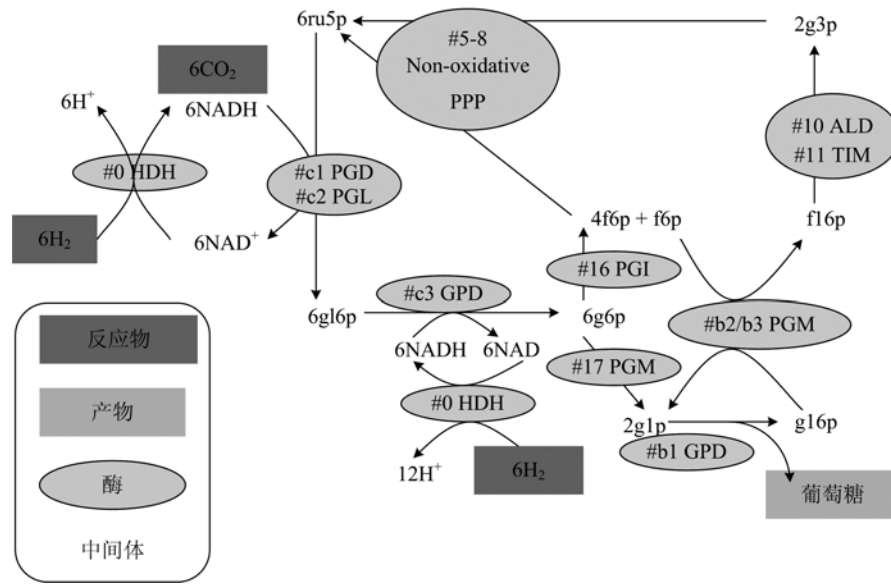
自由能分析:在上述所有方案中,由于反应物均是 CO₂ 和 H₂(或电解产生的 NADH),产物相同情况下,其标准自由能变化是相同的,产物是淀粉时,

均为 44.9 kJ/mol 单糖;产物是葡萄糖时,均为 27 kJ/mol 葡萄糖,区别在于中间过程的自由能变化. 由于这些中间过程均是自然界存在的生化过程,在移除最终产物后,均能自发进行. 总反应的自由能大于 0,说明标准状态下,平衡是向反应物方向移动. 根据反应物是气体,而产物是凝聚态,我们给反应器加压,就能降低总反应自由能,使平衡向产物方向移动. 计算表明,在 0.354 MPa 下,产物葡萄糖浓度达到了热力学标准状态下 1 mol/L.

2 效率分析

2.1 热力学效率

在我们提出的人工光合作用暗反应路径中,由于总反应自由能大于 0,如果使用纯 H₂ 和 CO₂ 作为反应物,在常温常压下,产物浓度将很低. 与热力学标准状态比,需要分离浓缩产物,使浓度提高到热力学标准浓度 1 mol/L;或者将 H₂ 分压从 0.101 MPa 升高到 0.252 MPa,使产物浓度达到热力学标准状态下 1 mol/L 浓度. 在这种情况下,系统总压力是 0.354 MPa,比标准情况下 0.203 MPa 略高. 我们将 H₂ 和 CO₂ 送入压力为 0.354 MPa 反应器时,将其增加消耗的能量计入输入能量,用于计算热力



与二磷酸甘油酸缩合途径不同的酶见表 4. 中间产物不同的如下:

6p g, 6-磷酸葡萄糖酸; g16p, 6-磷酸葡萄糖酸-δ-内酯; 省略无机磷酸, H⁺ 和水

图 4 氢能驱动固定 CO₂ 人工光合作用途径 (磷酸葡萄糖歧化和固定 CO₂ 的磷酸戊糖途径)

Fig. 4 The artificial photosynthesis pathway for CO₂ fixation powered by hydrogen (glucose phosphate dismutation and phosphate pentose to fix CO₂ pathway)

学转化效率, 得到的人工光合作用暗反应效率是 81.3%.

2.2 与植物光合作用暗反应热力学效率比较

植物光合作用暗反应是将储存在 NADH 和 ATP 中的自由能转化为糖的化学能. 通常储存在 NADH 和 ATP 能量是氧化 NADH 到 NAD⁺ 和水解 ATP 到 ADP 后所分别释放的自由能, 因此, 本文给出的植物光合作用暗反应的热力学效率是产物糖氧化所能释放的自由能与其反应物 NADH 和 ATP 所能释放的自由能之比, 在热力学标准状态下, 等于 79.3%. 我们提出的人工光合作用暗反应途径, 所对应的过程是将 NADH 自由能转化储存在糖中, 按照上述根据自由能定义的热力学效率, 即 1 mol 产物糖氧化所能释放的自由能与 12 mol NADH 氧化为 NAD 所释放的自由能之比, 计算得到的能量效率是 92.4%. 这说明, 我们提出的人工光合作用效率比植物光合作用的热力学效率大 13.1%.

在生物体内, ATP 主要来自氧化磷酸化过程, 氧化 1 mol NADH 约产生 2.5 mol ATP^[1], 如果以 NADH 作为植物光合作用反应物起点, 按照氧化磷酸化计算 ATP 的能量消耗, 则植物光合作用暗反应效率仅是 57.7%. 实际植物光合作用过程中, 再

生 3 mol ATP 和再生 2 mol NADH 均需要 4 mol 光子^[1], 相当于 1 mol NADH 只能再生 1.5 mol ATP, 从 NADH 出发, 根据光合磷酸化计算光合作用暗反应的热力学效率就更低了.

3 讨论

本文提出的人工光合作用暗反应, 使用自然界存在的多种酶, 催化自然界存在的多种生物化学过程, 是自然界不存在的糖合成路径. 其中关键之一是不需要消耗 ATP 来驱动糖合成, 从而避开了人工再生 ATP 的难题, 使人工光合作用暗反应能够比较容易地实现. 由于使用电能或氢能驱动, 从而可以使用能源人工合成糖, 实现不依赖气候和环境的工业化糖生产.

实施这种基于胞外酶工程法, 人工合成糖的主要问题之一是如何提高酶、辅酶和中间产物稳定性. 大规模人工合成糖, 需要降低它们的生产能耗和成本在生产糖的能耗和总成本中的比例. 除改进生产方法, 降低它们的生产成本和能耗外, 我们还应提高它们的稳定性, 优化人工光合作用反应条件, 增加合成糖反应速率, 降低它们的用量, 从而提高转化数. 通常转化数每提高 10 倍, 催化剂和中间产物对能耗和成本的贡献就会降低 10 倍. 转化数达到 100 万以

上,酶和中间产物的生产能耗和成本对最终产物的能耗和成本的贡献就可以忽略不计^[28].

提高酶的转化数的方法之一是提高酶的稳定性,主要包括使用高温酶、固定化酶等.在100℃以上水中生活的高温菌所产生的酶比通常酶要稳定,例如,从高温菌发展的两种酶,葡糖磷酸变位酶和6-磷酸葡萄糖脱氢酶^[29],在60℃和80℃工作时,转化数均超过40万^[30];固定化的葡萄糖异构酶的转化数则达到了110万^[28].

ATP容易水解而减少^[1],本文提出的几种人工光合作途径之一,磷酸葡萄糖歧化途径,不需要ATP参与;此外,本文提出的ATP增殖途径,可以增殖ATP,补充其消耗,从而可以解决ATP水解带来的负面影响.

对磷酸脂类中间体,可以在maltodextrin phosphorylase(2.4.1.1)催化下,使用磷酸与淀粉反应,生产磷酸葡萄糖^[31]来补充.对于不稳定的磷酸二羟基丙酮,可以采用复合酶和通道技术^[28],及时转化,防止降解.

NADH容易分解,如何解决NADH稳定性问题,是本方法的主要难点之一,可能的解决途径如下:

①化学合成甲醛,从而不需要使用NADH:在我们提出的人工光合作用暗反应途径磷酸葡萄糖歧化途径中,只有再生NADH及合成甲醛时,需要使用NADH,其他过程与NADH无关(参见图3中虚框部分).如果我们发展了高效化学合成法,将CO₂加氢得到甲醛,代替生化转化,就可以避免使用不稳定的辅酶NADH.

目前从H₂和CO₂出发,生成甲醛的方法是先将H₂和CO₂合成甲醇^[32],甲醇在部分氧化或脱氢得到甲醛^[33],这个过程的能量转化效率较低.但是,使用CO₂和H₂直接合成甲醛,最近也取得了进展,例如,采用双环戊二烯镍为催化剂,以丁醇水混合液为溶剂,甲醛选择性可达到100%^[34].附载在二氧化硅上的铂铜催化剂催化CO₂选择性加氢,在423K和0.608MPa下,可得到摩尔比20:87的甲醇和甲醛混合物,甲醛选择性超过了80%^[35].

②NADH改性:在生产亮氨酸和苯并氨酸时,使用链接到聚乙二醇上的NADH,转化数可以达到8万和60万^[36-38].在一些有机溶剂中,NAD/NADH也很稳定,有报道,在有机溶剂中进行的有机合成,转化数高达1百万^[39].目前在胞外酶工程

法生产手性药物方面,NADH成本已下降到忽略不计的程度^[40].

③使用稳定性更好的仿制品替代更换NADH:可以同样克服NAD等易分解,寿命短问题,例如,Lowe等发展了一系列仿制品^[41-42],它们在结构上与NAD相近,容易合成,反应性能相近,已经能与野生型酶共同协作完成催化作用^[43-44].

4 结论

发展人工光合作用,实现工业化粮食生产,摆脱对环境天气的依赖,是人类梦寐以求的理想.本文根据胞外酶工程原理,组合自然界存在的生化过程,提出了9种人工光合作用暗反应途径,包括3种基本途径,以及磷酸戊糖固定CO₂和化学法固定CO₂再生甲醛,替代3种基本途径中CO₂固定.与太阳能转化生产电能和氢能技术结合,提供了一种人工光合作用生产糖的技术方案.目前,人们已经积累了与此相关的技术,能否实现规模化工业生产,替代农业,为人类供应粮食,还需要今后的实践.我们应尽快通过试验验证,同时解决酶和辅酶稳定性和生产等问题.

此外,利用H₂和CO₂化学合成甲醛,利用甲醛合成葡萄糖,采用磷酸葡萄糖歧化途径,仅需要11种酶,不需要不稳定的NADH和ATP参与,从而容易实现,该技术与胞外酶催化糖产氢技术一起^[21],可使糖成为良好的储能载体.本文提出的人工光合作用方法还能用于生产多种糖衍生物,如1,6-二磷酸果糖.

致谢 感谢美国Virginia Polytechnic Institute and State University 张以恒教授的有益讨论.

参考文献 (References)

- [1] Berg J M, Tymoczko J L, Stryer L. Biochemistry [M]. 5th ed. New York: W H Freeman, 2002.
- [2] Singhal G S, Renger G, Sopory SK, et al. Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis [M]. Dordrecht: Springer, 1999.
- [3] Zhu X G, Long S P, Ort D R. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? [J]. Curr Opin Biotechnol, 2008, 19(2): 153-159.
- [4] Pace R J. An integrated artificial photosynthesis model [M]// Collings A F, Critchley C. Artificial

- photosynthesis; From basic biology to industrial application. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2005.
- [5] Brown A S, Green M A. Limiting efficiency for current-constrained two-terminal tandem cell stacks [J]. *Progress in Photovoltaics*, 2002, 10 (5): 299-307.
- [6] King R R, Law D C, Edmondson K M, et al. 40% efficient metamorphic GaInP/GaInAs/Ge multijunction solar cells [J]. *Applied Physics Letters*, 2007, 90: 183516; doi: 10.1063/1.2734507.
- [7] Charvin P, Stephane A, Florent L, et al. Analysis of solar chemical processes for hydrogen production from water splitting thermochemical cycles [J]. *Energy Conversion and Management*, 2008, 49 (6): 1 547-1 556.
- [8] Wendell D, Todd J, Montemagno C. Artificial photosynthesis in rhanaspumin-2 based foam [J]. *Nano Letters*, 2010, 10(9): 3 231-3 236.
- [9] Zhang Y H P, Huang W. Electricity-Carbohydrate-Hydrogen (ECHO) Cycle for Sustainability [R]. Salt Lake City, Utah: AICHE 2010 Annual Meeting, 2010.
- [10] Berg I A, Kockelkorn D, Ramos-Vera W H, et al. Autotrophic carbon fixation in archaea [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8(6): 447-460.
- [11] Jankowski M D, Henry C S, Broadbelt L J, et al. Group contribution method for thermodynamic analysis of complex metabolic networks [J]. *Biophysical Journal*, 2008, 95(3): 1 487-1 499.
- [12] Leskovic V, Trivic S, Pericin D, et al. Thermodynamic properties of the Calvin cycle and pentose phosphate pathway [J]. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 2008, 45(3): 157-165.
- [13] Okura I, Otsuka K, Nakada N, et al. Regeneration of NADH and ketone hydrogenation by hydrogen with the combination of hydrogenase and alcohol-dehydrogenase [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1990, 24-25: 425-430.
- [14] Popov V O, Gazaryan I G, Egorov A M, et al. NAD-dependent hydrogenase from the hydrogen-oxidizing bacterium *Alcaligenes eutrophus* Z1. Kinetic studies of the NADH-dehydrogenase activity [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1985, 827(3): 466-471.
- [15] DiCosimo R, Wong C H, Daniels L, et al. Enzyme-catalyzed organic synthesis: Electrochemical regeneration of NAD(P)H from NAD(P) using methyl viologen and flavoenzymes [J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 1981, 46(22): 4 622-4 623.
- [16] Obert R, Dave B C. Enzymatic conversion of carbon dioxide to methanol; Enhanced methanol production in silica sol-gel matrices [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1999, 121(51): 12 192-12 193.
- [17] Ei-Zahab B, Donnelly D, Wang P. Particle-tethered NADH for production of methanol from CO₂ catalyzed by coimmobilized enzymes [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, 99(3): 508-514.
- [18] Kuwabata S, Tsuda R, Yoneyama H. Electrochemical conversion of carbon-dioxide to methanol with the assistance of formate dehydrogenase and methanol dehydrogenase as biocatalysts [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1994, 116(12): 5 437-5 443.
- [19] Kato N, Yurimoto H, Thauer R K. The physiological role of the ribulose monophosphate pathway in bacteria and archaea [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, 70(1): 10-21.
- [20] Orita I, Sato T, Yurimoto H, et al. The ribulose monophosphate pathway substitutes for the missing pentose phosphate pathway in the archaeon *Thermococcus kodakaraensis* [J]. *J Bacteriol*, 2006, 188(13): 4 698-4 704.
- [21] Schlegel H G, Bowien B. *Autotrophic bacteria* [M]. New York: Springer Verlag, 1989.
- [22] Lehninger A L, Nelson D L, Cox M M. *Lehninger principles of biochemistry* [M]. 4th ed. New York: W H Freeman, 2005.
- [23] Caspi R, Altman T, Dale J M, et al. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases [J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38: D473-D479.
- [24] Passonneau J V, Lowry O H, Schulz D W, et al. Glucose 1, 6-diphosphate formation by phosphoglucomutase in mammalian tissues [J]. *J Biol Chem*, 1969, 244(3): 902-909.
- [25] Hatzimanikatis V, Jankowski M D, Henry C S, et al. Group contribution method for thermodynamic analysis of complex metabolic networks [J]. *Biophysical Journal*, 2008, 95(3): 1 487-1 499.
- [26] Bridges R B, Palumbo M P, Wittenberger C L. Purification and properties of an NADP-specific 6-phosphogluconate dehydrogenase from *Streptococcus faecalis* [J]. *J Biol Chem*, 1975, 250: 6 093-6 100.
- [27] Clarke J L, Mason P J. Murine hexose-6-phosphate dehydrogenase: A bifunctional enzyme with broad substrate specificity and 6-phosphogluconolactonase activity [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2003, 415(2): 229-234.
- [28] Zhang Y H P. Production of biocommodities and bioelectricity by cell-free synthetic enzymatic pathway

- biotransformations; Challenges and opportunities[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2010, 105(4): 663-677.
- [29] Wang Y R, Zhang Y H P. Overexpression and simple purification of the *Thermotoga maritima* 6-phosphogluconate dehydrogenase in *Escherichia coli* and its application for NADPH regeneration [J]. *Microbial Cell Factories*, 2009, 8: 30; doi:10.1186/1475-2859-8-30.
- [30] Wang Y, Zhang Y H P. A highly active phosphoglucomutase from *Clostridium thermocellum*: Cloning, purification, characterization and enhanced thermostability[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(1): 39-46.
- [31] Keseler I M, Bonavides-Martinez C, Collado-Vides J, et al. EcoCyc: A comprehensive view of *Escherichia coli* biology[J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37: D464-D470.
- [32] Olah G A, Goepfert A, Prakash G K S. *Beyond Oil and Gas: The Methanol Economy* [M]. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2006.
- [33] Reuss G, Disteldorf W, Gamer A O, et al. Formaldehyde [M]// *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, 2002.
- [34] Katsumi O, Tadashi Y. Production of Formaldehyde by Catalytic Hydrogenation of Carbon Dioxide: JP, 08245477[P]. 1996.
- [35] Lee D K, Kim D S, Kim S W. Selective formation of formaldehyde from carbon dioxide and hydrogen over PtCu/SiO₂ [J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 2001, 15(2): 148-150.
- [36] Hummel W, Schutte H, Schmidt E, et al. Isolation of L-phenylalanine dehydrogenase from *Rhodococcus* sp M4 and its application for the production of L-phenylalanine[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1987, 26(5): 409-416.
- [37] Kragl U, Kruse W, Hummel W, et al. Enzyme engineering aspects of biocatalysis: Cofactor regeneration as example [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1996, 52(2): 309-319.
- [38] Wichmann R, Vasic-Racki D. Cofactor regeneration at the lab scale [J]. *Technology Transfer in Biotechnology: From Lab to Industry to Production*, 2005, 92: 225-260.
- [39] Kazandjian R, Klibanov A. Regioselective oxidation of phenols catalyzed by polyphenol oxidase in chloroform [J]. *J Am Chem Soc*, 1985, 107: 5 448-5 450.
- [40] Moore J C, Pollard D J, Kosjek B, et al. Advances in the enzymatic reduction of ketones [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2007, 40(12): 1412-1419.
- [41] Ansell R J, Small D A P, Lowe C R. Synthesis and properties of new coenzyme mimics based on the artificial coenzyme CL4 [J]. *Journal of Molecular Recognition*, 1999, 12(1): 45-56.
- [42] Ryan J D, Fish R H, Clark D S. Engineering cytochrome P450 enzymes for improved activity towards biomimetic 1, 4-NADH cofactors [J]. *Chembiochem*, 2008, 9(16): 2 579-2 582.
- [43] Lo H C, Fish R H. Biomimetic NAD⁺ models for tandem cofactor regeneration, horse liver alcohol dehydrogenase recognition of 1, 4-NADH derivatives, and chiral synthesis [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2002, 41(3): 478-481.
- [44] Lutz J, Hollmann F, Ho T V, et al. Bioorganometallic chemistry: Biocatalytic oxidation reactions with biomimetic NAD⁺/NADH co-factors and [Cp * Rh(bpy)H]⁺ for selective organic synthesis[J]. *Journal of Organometallic Chemistry*, 2004, 689(25): 4 783-4 790.