

硫前驱体调控硫化非晶零价铁界面电子传递强化光发酵产氢

任杰玲 常俏 卢纪言 曹稳 郭烈锦

(西安交通大学动力工程多相流国家重点实验室, 710049, 西安)

摘要: 针对光发酵产氢过程中电子利用率低的问题, 通过调控硫前驱体构建不同界面结构的硫化非晶零价铁 (SAZVI), 并与荚膜红杆菌 (*Rhodobacter capsulatus*) SB1003 组装形成生物杂合体系。采用 Na_2S 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 和 K_2S_6 对非晶零价铁进行硫化改性, 通过调控 Fe-S 界面结构构建高效电子供体, 并结合材料表征、电化学分析及响应面法评估其电子供给能力及产氢性能。结果表明, 不同硫前驱体显著影响 Fe-S 界面构型及电子传递能力。其中, Na_2S 构建的 SAZVI 形成均一 FeS 导电层, 并保留较高比例 Fe^0 活性位点。XPS 分析表明, Fe^0 、 Fe^{2+} 和 S^{2-} 物种的富集优化了界面电子结构, 使材料表现出更负的腐蚀电位 (-1.27 V)。基于该材料构建的杂合体系获得最佳产氢性能, 累积产氢量达到 $2865.43\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$, 最大产氢速率为 $60.24\text{ mL}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 产氢延迟期缩短至 2.78 h 。响应面优化结果表明, 最优条件为 pH 7.53、葡萄糖浓度 $11\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和灯功率 42 W 。在该条件下, 体系产氢量较对照组提高 52.34%。本研究从界面工程角度阐明了硫前驱体调控 Fe-S 结构对电子传递的关键作用, 为构建高效生物杂合产氢体系提供了参考。

关键词: 光发酵产氢; 杂合体系; 硫前驱体; 界面电子传递

中图分类号: TK91 **文献标志码:** AA

文章编号: 0253-987X(XXXX)XX-0001-20

Sulfur Precursor-Regulated Electron Transfer in Sulfidated Amorphous Zero-Valent Iron for Enhanced Photofermentative Hydrogen Production

REN Jieling, CHANG Qiao, LU Jiyang, CAO Wen, GUO Liejin

(State Key Laboratory of Multiphase Flow in Power Engineering, Xi'an Jiaotong University,
Xi'an 710049, China)

Abstract: To address the low electron utilization efficiency in photofermentative hydrogen production, sulfidated amorphous zero-valent iron (SAZVI) with different interfacial structures was synthesized by regulating sulfur precursors and subsequently assembled with *Rhodobacter capsulatus* SB1003 to construct a biohybrid system. Na_2S , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, and K_2S_6 were employed to sulfurize amorphous zero-valent iron, enabling the construction of efficient electron donors through modulation of the Fe-S interfacial structure. Material characterization, electrochemical analyses, and response surface methodology were combined to evaluate the electron-donating capability and hydrogen-production

收稿日期: 2026-05-07。

performance of the resulting systems. The results demonstrated that sulfur precursors markedly influenced the Fe-S interfacial configuration and electron-transfer capability. Among them, the Na_2S -derived SAZVI exhibited a uniform FeS conductive layer while retaining a high proportion of Fe^0 active sites. XPS analysis revealed that the enrichment of Fe^0 , Fe^{2+} , and S^{2-} species optimized the interfacial electronic structure, resulting in a more negative corrosion potential (-1.27 V). Accordingly, the biohybrid system constructed with Na_2S -derived SAZVI achieved the best hydrogen-production performance, with a cumulative hydrogen yield of 2865.43 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$, a maximum hydrogen production rate of 60.24 $\text{mL}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, and a shortened lag phase of 2.78 h. Response surface optimization identified the optimal operating conditions as pH 7.53, glucose concentration of 11 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, and lamp power of 42 W, under which hydrogen production was enhanced by 52.34% compared with the control. This study elucidates the critical role of sulfur-precursor-regulated Fe-S interfacial structures in facilitating electron transfer. It offers a reference for developing highly efficient biohybrid systems for photofermentative hydrogen production.

Keywords: photofermentative hydrogen production; biohybrid system; sulfur precursor; interface electron transfer

光发酵产氢作为一种可持续、环境友好的生物制氢技术,因其能够在温和条件下利用有机底物实现氢气的高效转化而受到广泛关注^[1,2]。然而,该过程普遍存在电子利用效率低、还原力供给不足等问题,严重制约了其规模化应用^[3]。尤其是在以光合细菌为代表的生物体系中,胞内还原当量的生成与分配效率直接决定氢气(H_2)生成速率,而材料-细胞界面的电子传递过程往往成为关键限制步骤之一^[4]。

近年来,将功能材料引入微生物体系以构建“材料-微生物”生物杂合体系,被认为是提升电子传递效率并调控代谢路径的有效策略^[5-7]。其中,零价铁(ZVI)因其优异的还原性和电子供体特性,被广泛用于强化生物产氢及微生物电子传递过程^[8,9]。相比传统晶态ZVI,非晶零价铁(AZVI)能持续提

供电子并强化界面电子传递,为构建高效导电界面提供了重要基础^[10]。然而,裸AZVI由于其高反应活性,表面易钝化,从而限制其电子传递性能的进一步发挥^[11]。

硫化改性被认为是调控ZVI界面性质的有效手段。通过在材料表面构建Fe-S界面,不仅能够抑制铁的过度氧化,还可增强界面导电性和生物相容性,从而促进材料与微生物之间的电子传递^[12-13]。然而,现有研究主要关注单一硫源改性体系,对于不同硫前驱体诱导形成的Fe-S界面结构差异及其对电子供给能力和界面电子传递行为的影响仍缺乏系统认识,这限制了硫化材料在光发酵产氢领域的进一步应用。

基于此,本文以不同硫前驱体($\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 和 K_2S_6)调控构建硫化非晶零价铁(SAZVI),并与

Rhodobacter capsulatus SB1003 组装形成生物杂合体系。研究重点关注硫前驱体对 Fe-S 界面结构及电子供给特性的调控作用,揭示界面电子传递强化光发酵产氢的作用机制,并通过响应面法优化关键工艺参数以进一步提升产氢性能。本研究不仅拓展了 SAZVI 在生物能源领域的应用,也为基于界面工程调控生物杂合体系电子传递行为提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 不同硫前驱体调控 SAZVI 的制备

将 4.97 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶解于 300 mL 去离子水中,随后加入 2.4 mL 乙二胺溶液(EDA),搅拌 5 min。接着,通过蠕动泵以 $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 将 75 mL 含 3.80 g NaBH_4 的溶液滴加至体系中,继续反应搅拌 30 min。所得的黑色固体经磁分离,并用超纯水洗涤 3 次。将洗涤后的产物加入到 50 mL 的含硫源溶液(1.93 g $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 、0.70 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 或 2.12 g K_2S_6)中,搅拌 20 min 进行硫化处理。产物经冷冻干燥后保存于真空袋中备用。所有样品的理论 S/Fe(II)摩尔比为 0.45。根据所使用硫前体的不同,所得材料分别命名为 SAZVI- Na_2S 、SAZVI- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 和 SAZVI- K_2S_6 。整个合成过程均在氮气保护下进行,以避免氧化干扰。

1.2 菌株与培养条件

选取 *Rhodobacter capsulatus* SB1003 作为模式产氢菌株^[14]。预培养过程中将单菌落 SB1003 接种于 10 mL 改进的 MedA 液体培养基中^[15],于 50 mL 螺口离心管内在 35 °C 条件下培养 48 h,全程在黑暗条件下以 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡进行有氧培养。

1.3 光发酵产氢实验

将预培养液的光密度(OD_{660})调节至 1.0,取 2 mL 接种至产氢培养基中,并补足总体积至 10 mL。随后向体系中加入 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的材料。所有产氢实验均在 30 mL 注射器中进行,在 30 ± 1 °C 条件下反应 96 h。如无特殊说明,初始 pH 为 7,葡萄糖浓度为 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,灯功率为 20 W。为考察初始 pH 对产氢性能的影响,采用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 或 HCl 将体系 pH 调节至设定值,同时保持其他条件不变。进一步地,为系统评估底物浓度与灯功率对产氢过程的影响,通过调节培养基中葡萄糖质量浓度($2 \sim 15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)以及灯功率($10 \sim 50 \text{ W}$)开展单因素实验,其余操作条件保持一致。所有实验均设置 3 组平行样,数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,图中误差棒代表标准差。

1.4 材料表征与分析方法

使用扫描电子显微镜(SEM, JEOL7800F, 日本)表征材料的形貌。利用 X 射线衍射仪(XRD, X' Pert

MPD PRO, 荷兰) (Cu K α , 40 kV, 40 mA) 分析其晶体结构。通过 NAP-XPS Backfilling 型 X 射线光电子能谱仪 (XPS, SPECS, 德国) 分析材料表面元素组成及化学价态。使用紫外可见分光光度计 (HACH DR6000, 美国) 测定吸光度, 其中 OD₆₆₀ 用于表示 SB1003 的生物量。体系氧化还原电位 (ORP) 由 ORP 计 (YHBJ-262, Remco, 中国) 测试。Zeta 电位采用 Zeta 电位分析仪 (Malvern Panalytical) 测定。pH 值通过 pH 计 (FE28, 美国) 监测与调节。发酵过程中每 24 h 进行一次取样。在超净工作台内采用无菌注射器从密闭反应体系中抽取 2 mL 发酵液, 整个操作过程迅速完成, 以最大程度降低外界环境对发酵体系的影响。取出的样品用于测定 OD₆₆₀ 和体系 pH 变化。产气量则每 12 h 通过读取注射器刻度进行记录。氢气产量由氢气浓度与产气量计算得到。氢气浓度采用气相色谱仪 (GC, Agilent) 测定, 配备 4 m $\times$ 3 mm 不锈钢 Hayesep 填充柱, 以氩气为载气 (20 mL $\cdot$ min⁻¹), 检测器、进样口和柱温分别设定为 150、100 和 50 $^{\circ}$ C。对于材料中 Fe⁰ 含量的测定是将一定量样品加入 100 mL 37% 盐酸溶液中充分反应, 收集产生的气体后, 取 200 μ L 顶空气体采用 GC (Agilent) 进行 H₂ 分析, 并根据 H₂ 生成量计算 Fe⁰ 含量。

1.5 产氢动力学分析

本研究采用修正 Gompertz 方程拟

合发酵过程中的产氢动力学参数, 方程式为

$$H = H_{\max} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{\max} e}{H_{\max}} (\lambda - t) \right] + 1 \right\} \quad (1)$$

式中: H 为累积产氢量 (mL); $H_{\max}$ 为最大产氢量 (mL); $R_{\max}$ 为最大产氢速率 (mL $\cdot$ h⁻¹); λ 为产氢延迟期 (h); t 为发酵时间 (h); $e = 2.718$ 。

1.6 响应面实验设计与优化

基于单因素实验结果, 选取初始 pH (A)、葡萄糖浓度 (B) 及灯功率 (C) 为自变量, 以累积氢气产量为响应值, 采用 Design-Expert 软件构建三因素三水平的响应面模型 (RSM), 以系统优化 SAZVI-Na₂S 强化光发酵产氢的运行条件。各因素及其水平设置见表 1。

表 1 响应面因素与水平设计

Table 1 Response surface factors and horizontal design

序号	水平		
	-1	0	1
初始 pH	6	7	8
葡萄糖浓度/(g $\cdot$ L ⁻¹)	5	10	15
灯功率/W	20	35	50

2 结果与讨论

2.1 SAZVI 的结构及界面特性表征

不同硫前驱体合成的 SAZVI 的形貌特征如图 1 (a) ~ (c) 所示。可以看出, SAZVI-Na₂S 形成的颗粒分布均

一,且表面硫化层厚度适中。已有研究表明, S^2 可在ZVI表面原位生成致密的硫化物复合层(主要为FeS),从而构建稳定的界面结构^[16]。相比之下,SAZVI- $Na_2S_2O_4$ 表面的FeS分布不均,而SAZVI- K_2S_6 则表现为颗粒尺寸较小且表面硫化层过厚。上述结果表明,不同硫前驱体会显著调控SAZVI的形貌结构及表面硫物种状态,进而可能影响其后续的产氢性能。进一步通过XRD对不同样品的晶体结构进行分析(图1(d))。与Fe标准卡片(JCPDS#06-0696)相比,3种硫前驱体处理后的样品均未出现对应的特征衍射峰,仅呈现宽弥散峰特征,表明材料仍保持非晶态结构。同时,硫化样品中未检测到铁氧化物的特征峰,表明硫化处理有效提高了材料的抗氧化能力^[17]。鉴于SAZVI的性能主要来源于其内部 Fe^0 核持续提供电子,对样品中铁含量进行了测定。结果显示,Fe含量大小规律为SAZVI- Na_2S > SAZVI- $Na_2S_2O_4$ > SAZVI- K_2S_6 ,说明硫前驱体的选择会影响材料中有效 Fe^0 的保留程度。在光发酵产氢体系中,电子传递速率是限制其效率的关键因素之一,而该过程与 Fe^0 的氧化能力密切相关,可通过自由腐蚀电位进行表征。通常,自由腐蚀电位越负,材料的电子供给能力越强^[18]。为此,通过Tafel极化曲线测定了不同样品的电化学行为。结果表明,SAZVI- Na_2S 、SAZVI- $Na_2S_2O_4$ 和SAZVI- K_2S_6 的自由腐蚀电位分别为-1.27 V、-1.09 V和-0.72 V。由

此可见,硫化处理显著促进了 Fe^0 向表面物种的电子传递,其中以 Na_2S 体系最为显著,这为其后续增强光发酵产氢性能提供了重要基础。

进一步通过XPS对不同SAZVI样品表面元素的化学价态进行解析,以阐明硫前驱体对界面电子结构的调控作用。首先,在Fe 2p高分辨谱中,三种样品均存在 Fe^0 、 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 物种(图2(a))。其中,706.9 eV处 Fe^0 峰的存在在进一步证实材料仍保留活性铁核。相比之下,SAZVI- K_2S_6 样品中 Fe^0 峰强度明显降低,这与其较低的总Fe含量结果相吻合。SAZVI- Na_2S 样品则表现出更高比例的 Fe^0 信号,说明其在形成适度硫化层的同时,最大程度保留了内部电子供体。在S 2p谱中(图2(b)),SAZVI- Na_2S 样品中 S^{2-} 峰占比最高且峰形较为集中,表明其表面形成了均一且致密的FeS界面层。而SAZVI- $Na_2S_2O_4$ 样品中S物种分布较为分散,说明其硫化过程不完全且空间分布不均,这与SEM观察结果一致。对于SAZVI- K_2S_6 ,其S物种分布介于二者之间,但结合Fe 2p谱中 Fe^0 信号的明显减弱,可以推断其硫化过程伴随着更强的 Fe^0 消耗及较高程度的表面硫化。综合来看,不同硫前驱体不仅影响 Fe^0 的保留程度,还显著调控Fe-S界面的化学组成与电子结构。其中, Na_2S 处理形成的均一FeS层能够在保证电子有效输出的同时提供良好的导电界面,从而促进内部 Fe^0 向外界的电子传递。这一结果与Tafel测

试中 Na_2S 体系表现出更负的腐蚀电位 子供给能力。
高度一致,进一步证明其具有更强的电

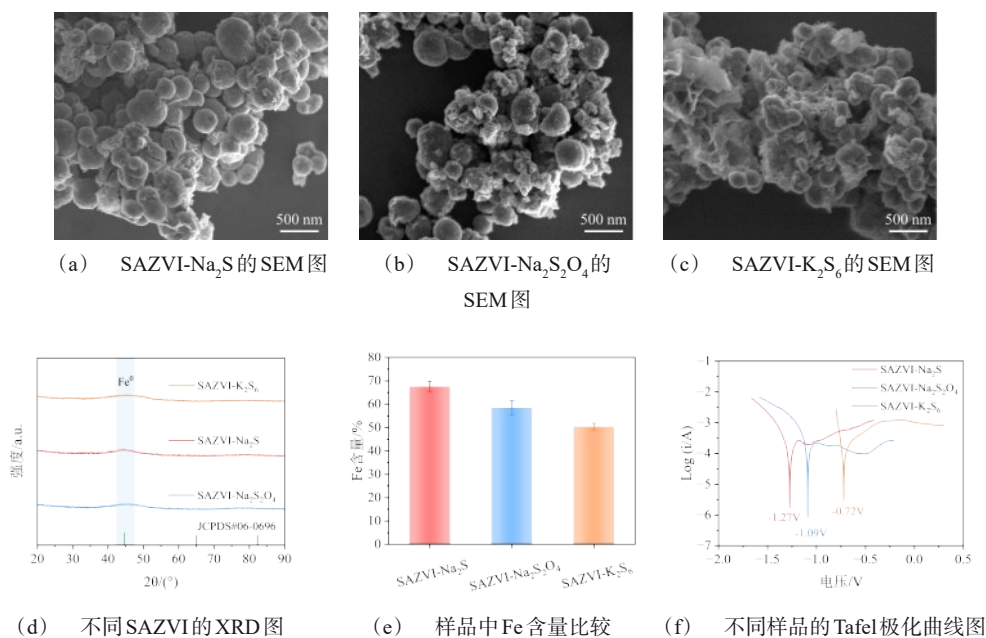
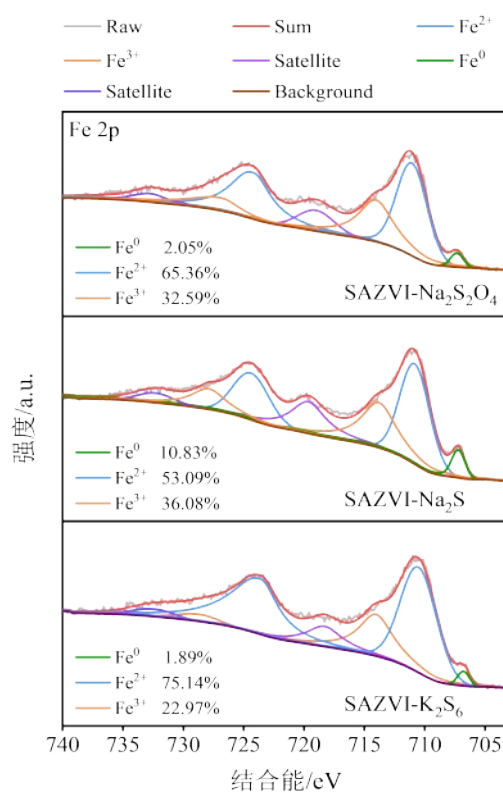
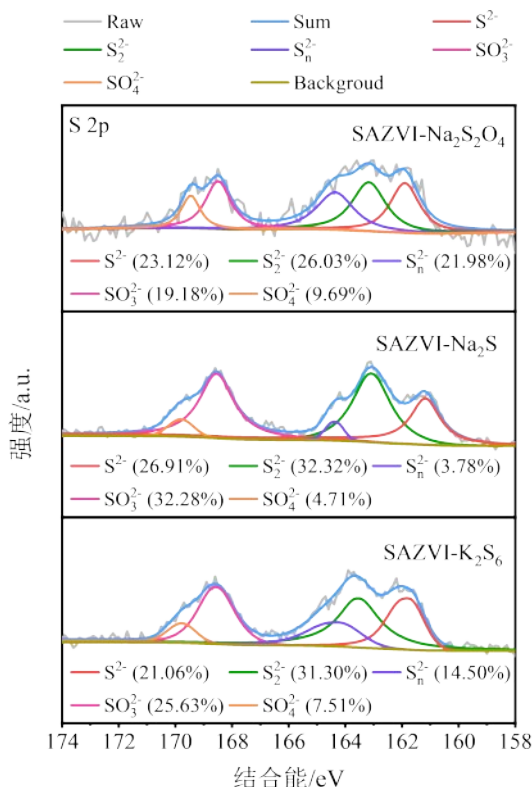


图1 不同硫先驱体调控SAZVI的形貌结构与电化学特性表征

Fig. 1 Morphology and electrochemical characterization of SAZVI regulated by different sulfur precursors



(a) 不同硫前驱体调控SAZVI的Fe 2p图谱



(b) 不同硫前驱体调控SAZVI的S 2p图谱

图2 不同硫前驱体调控SAZVI的XPS图谱分析

Fig. 2 XPS analysis of SAZVI regulated by different sulfur precursors

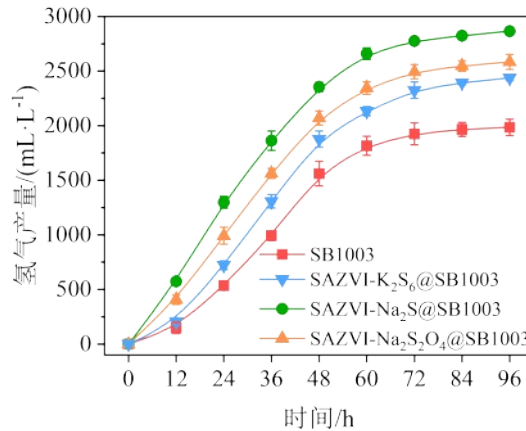
2.2 硫前驱体对产氢性能的影响

图3(a)展示了不同硫前驱体制备的SAZVI参与下发酵体系的累积产氢性能。总体来看,引入SAZVI均能显著提升杂合体系的氢气生成能力。SB1003的最终累积氢气产量为1985.19 mL·L⁻¹,而SAZVI-Na₂S@SB1003、SAZVI-Na₂S₂O₄@SB1003及SAZVI-K₂S₆@SB1003体系分别达到2865.43 mL·L⁻¹、2583.88 mL·L⁻¹和2347.58 mL·

L⁻¹,较对照组分别提高了44.34%、30.16%和18.25%。由图3(b)可知,不同体系的产氢速率也存在明显差异。其中,SAZVI-Na₂S@SB1003和SAZVI-Na₂S₂O₄@SB1003的最大产氢速率分别为54.14 mL·(L·h)⁻¹和43.42 mL·(L·h)⁻¹,且均提前至发酵24 h和36 h出现。相比之下,SB1003和SAZVI-K₂S₆@SB1003的最大产氢速率分别为32.52 mL·(L·h)⁻¹和39.12 mL·(L·h)⁻¹,峰值则滞后至48 h。基于Gompertz发酵动力学模型对累

积产氢数据进行拟合(表2), 结果表明各体系均具有良好的拟合效果($R^2 > 0.99$), 说明该模型能够有效描述氢气生成过程。进一步计算得到氢气生成的延迟期, SB1003、SAZVI- Na_2S @SB1003、SAZVI- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ @SB1003 及

SAZVI- K_2S_6 @SB1003 分别为 13.22 h、2.78 h、5.72 h 和 10.82 h。可以看出, SAZVI- Na_2S 显著缩短了杂合体系的启动时间, 这一结果与其较高的产氢速率表现相一致。



在产氢性能分析的基础上, 进一步对体系的细胞生长(OD_{660})及发酵环境pH变化进行探讨, 以揭示SAZVI对发酵过程的调控作用。如图3(c)所示, 各体系的 OD_{660} 均随发酵时间延长而逐步升高, 表明细菌处于持续生长状态。但相比对照组SB1003, 引入SAZVI后体系的 OD_{660} 整体明显提高, 说明SAZVI能够有效促进细胞增殖。其中, SAZVI- Na_2S @SB1003的 OD_{660} 值始终最高, 其次为SAZVI- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ @SB1003和SAZVI- K_2S_6 @SB1003体系, 这一趋势与累积产氢结果一致, 表明更高的生物量有助于提升体系的产氢能力。这可能归因于SAZVI提供的导电界面

增强了细胞代谢活性, 从而促进了微生物生长。图3(d)展示了不同体系pH的变化情况。总体来看, 各体系pH随发酵时间的延长出现不同程度的下降, 主要与有机酸等代谢产物的积累有关。然而, 相较于对照组, SAZVI修饰体系的pH下降幅度较小, 表现出更强的缓冲能力, 尤其是SAZVI- Na_2S @SB1003体系, 其pH始终维持在相对较高水平。这表明SAZVI的引入有助于缓解体系酸化, 从而为光合细菌维持适宜的生长与代谢环境^[9]。结合产氢结果可以看出, 较高的 OD_{660} 值和相对稳定的pH环境有利于维持细胞活性并促进电子向产氢途径的分配。其中, SAZVI- Na_2S

体系通过同时强化细胞生长与缓冲酸化效应,实现了最优的产氢性能,这也进

一步说明材料结构与界面特性在调控生物发酵过程中的关键作用。

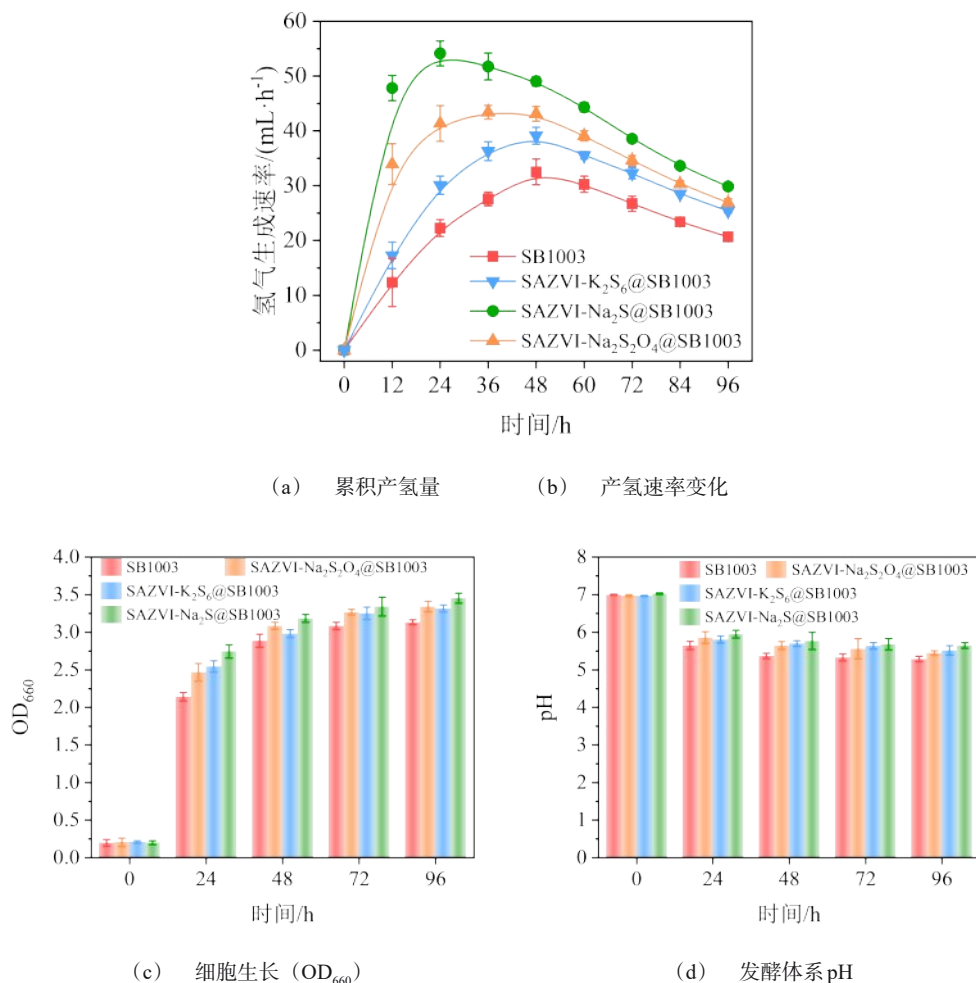


图3 不同SAZVI体系对产氢性能及发酵行为的影响

Fig. 3 Effects of different SAZVI systems on hydrogen production performance and fermentation behavior

已有研究表明 Fe^{2+} 在界面电子传递及微生物代谢调控过程中发挥着重要作用^[20],而SAZVI在发酵过程中能够持续释放 Fe^{2+} 。因此,结合上述产氢性能结果,推测 Fe^{2+} 动态循环可能参与了杂

合体系的电子传递过程并促进氢气生成。为进一步验证 Fe^{2+} 在体系中的作用,向SAZVI-Na₂S@SB1003体系中添加 Fe^{2+} 络合剂1,10-菲啰啉(Phen, 0.5 mM)进行抑制实验(图4)。结果表

明,加入 Phen 后,体系累积产氢量较未添加 Phen 组下降了 23.90%。而 SB1003+Phen 组与 SB1003 组相比仅下降 5.28%,表明 Phen 对细胞生长和基础产氢过程的影响较小。上述结果说明,

Fe^{2+} 被络合后 SAZVI 对产氢的促进作用明显减弱,证实了 Fe^{2+} 是 SAZVI 强化界面电子传递并促进光发酵产氢的重要因素。

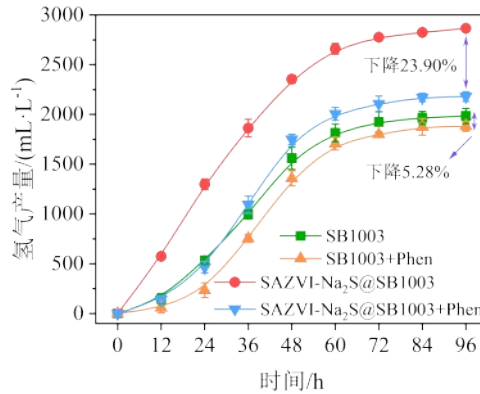


图4 Fe^{2+} 络合作用对产氢性能的影响

Fig. 4 Effect of Fe^{2+} chelation on hydrogen production.

表2 不同硫前驱体调控SAZVI体系的产氢动力学参数

Table 2 Kinetics parameters of hydrogen production regulated by different sulfur precursors in the SAZVI system

样品	$H_{\max}/(\text{mL}\cdot\text{L}^{-1})$	$R_{\max}/(\text{mL}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1})$	λ/h	R^2
SB1003	2043.70	47.75	13.22	0.995
SAZVI- $\text{Na}_2\text{S}@SB1003$	2925.40	60.24	2.78	0.999
SAZVI- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4@SB1003$	2649.77	54.48	5.72	0.999
SAZVI- $\text{K}_2\text{S}_6@SB1003$	2489.15	54.20	10.82	0.999

2.3 关键因素对产氢的影响

2.3.1 初始pH的影响

pH是影响发酵体系稳定性及细胞代谢活性的关键参数^[21]。通过调节初始pH,对不同体系的产氢性能进行了系统比较(图5(a))。结果表明,SB1003(Control)在中性至弱碱性条

件($\text{pH} = 7-8$)下表现出较高的产氢活性,而在偏酸或强碱条件下均受到抑制。相比之下,引入SAZVI后,各体系在不同初始pH条件下的产氢能力均得到显著提升,并表现出更宽的适用pH范围。值得注意的是,在所有硫前驱体构建的体系中, Na_2S 衍生的

SAZVI 始终表现出最优的产氢性能,尤其在 $\text{pH} = 7\text{--}8$ 条件下,其产氢量达到最高水平 (2865.43 和 $3015.71 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$),显著优于 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 和 K_2S_6 体系。这表明,以 Na_2S 为硫源构建的 FeS 界面更有利于电子传递与细胞代谢耦合,从而最大程度促进光发酵产氢过程。随着初始 pH 从 5 升高至 8,产氢量逐渐增加,这主要归因于较适宜的 pH 条件有利于细胞生长及代谢活性增强。然而,当初始 pH 进一步升高至 9 时,尽管所有体系的产氢量均有所下降,但 SAZVI 参与的生物杂合体系下降幅度明显小于对照组,表现出更强的碱性耐受性。这一现象可能归因于:非晶 Fe^0 在持续释放电子的同时伴随局部酸化效应,从而在细胞-材料界面构建相对温和的微环境^[22]。同时, Fe-S 导电界面能够促进电子高效传递,缓解碱性条件下电子供给受限的问题,从而部分抵消高 pH 对产氢过程的不利影响^[23]。此外,在强酸性条件 ($\text{pH} = 5$) 下,所有体系的产氢活性均显著降低,这主要由于过低 pH 导致细胞内质子失衡及关键酶(如固氮酶)失活,从而抑制光发酵产氢过程^[24]。总体而言,SAZVI 不仅通过界面电子供给与传递强化代谢过程,还能够调节局部微环境,缓冲外界 pH 波动。

2.3.2 葡萄糖浓度的影响

葡萄糖作为光合细菌的主要碳源,其浓度对细胞代谢活性及产氢潜力具有决定性影响^[25]。如图 5 (b) 所示,随着葡萄糖浓度由 $2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 提升至 $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,

体系产氢量显著增加,表明充足的底物供给能够有效增强还原力生成并促进产氢过程。进一步对比不同体系可以发现,引入 SAZVI 后,各组在不同底物浓度下的产氢性能均明显优于对照组。其中, Na_2S 衍生的 SAZVI 体系在各浓度梯度下均表现出最高的产氢水平,在 $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 区间达到峰值 ($3177.16 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$),说明其构建的 Fe-S 界面更有利于电子供给与传递,从而最大程度提升底物利用效率与产氢能力。然而,当葡萄糖浓度进一步升高至 $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,产氢量较峰值下降约 13.05%。这一现象主要归因于高底物条件下代谢速率过快,导致有机酸等副产物积累,引发体系酸化。尽管 SAZVI 中的非晶 Fe^0 可通过腐蚀过程产生一定的缓冲作用,并持续提供电子以维持还原性环境,但在高浓度底物条件下,其缓冲能力 ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 投加量) 仍不足以完全抵消酸化效应,从而对细胞活性产生抑制作用。此外,对比不同硫前驱体体系可见, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 与 K_2S_6 体系在高底物条件下产氢下降更为明显,进一步说明其界面电子传递效率或结构稳定性相对较弱,而 Na_2S 体系则表现出更强的抗胁迫能力和代谢适配性。总体而言,适中的底物浓度 (约 $8\text{--}10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 有助于在维持还原性环境的同时保障细胞活性,从而实现高效产氢,而过量底物则由于酸化效应限制体系性能。

2.3.3 灯功率的影响

光照作为驱动光发酵的核心外部因

素,直接影响光合细菌的能量供给与电子生成过程^[26]。如图5(c)所示,随着灯功率由10 W提升至35 W,各体系的累积氢气产量均显著增加,说明适当提高灯功率有利于提升光系统活性,促进还原力的生成,从而强化产氢过程^[27]。当灯功率进一步提高至50 W时,产氢量整体仍呈上升趋势,但增幅趋于减缓,表明体系逐渐接近光能利用与代谢能力之间的匹配上限。对比不同体系可以发现,引入SAZVI后,各光照条件下的产氢性能均明显优于对照组,表明其在促进光生电子利用方面具有积极作用。其中,Na₂S衍生的SAZVI体系始终表现出最优产氢性能,并在50 W条件下达到峰值(3319.73 mL·L⁻¹),显著提升了光能向化学能的转化效率,说明该体系能够更有效地响应光输入的增加。相比之下,Na₂S₂O₄与K₂S₆体系在较高灯功率条件下产氢提升幅度有限,表明不同硫前驱体构建的界面结构对光能利用能力存在显著差异,其中Na₂S体系表现出更优的光响应特性。总体而言,适宜的灯功率有助于实现光能输入与代谢负荷之间的平衡,从而获得较高的产氢效率并提高光能利用率。SAZVI的引入显著提升了体系对光输入变化的适应能力,其中Na₂S杂合体系表现出最优的综合性能。

2.4 响应面法优化及模型分析

2.4.1 回归模型建立与显著性分析

基于上述结果确定SAZVI-Na₂S体

系为最优构型,进一步采用三因素三水平响应曲面法,系统解析初始pH、葡萄糖浓度与灯功率对产氢性能的协同影响,并实现工艺参数优化。实验结果(表3)表明,当初始pH为7、葡萄糖浓度为10 g·L⁻¹、灯功率为35 W时,体系表现出最优产氢性能,累积产氢量达到3418.52 mL·L⁻¹。

基于表3的实验数据,采用Design-Expert软件对各单因素及其交互作用对氢气产量的影响进行多元回归分析,并建立了二次多项式回归模型,其具体表达式如下:

$$Y = 3418.52 + 322.98A + 244.25B + 203.53C - 21 - 23.01AC - 41.93BC - 291.25A^2 - 540.79B^2 - 19$$

响应面模型的方差分析结果见表4。模型项的 $P < 0.01$,表明模型具有极显著性。失拟项的 $P > 0.05$,说明失拟不显著,模型拟合良好。进一步地,模型的拟合度 $R^2 = 0.9774$,调整后的拟合度 $R^2_{\text{adj}} = 0.9367$,均高于0.9,表明该模型具有较高的可靠性,能够较好地反映实验因素与响应值之间的关系^[28]。

2.4.2 响应面交互作用分析

由图6可知,各因素之间均存在不同程度的交互作用,但其显著性表现存在差异。初始pH与葡萄糖浓度之间的交互作用较弱,响应面变化平缓,等高线趋于规则椭圆形,说明两者对产氢的影响主要体现为独立的主效应。这可能源于葡萄糖主要调控底物供给水平,而pH则影响菌体代谢状态及酶促反应环境,二者作用机制相对分离。相较而

言, 初始pH与灯功率之间表现出更为显著的交互效应, 响应面弯曲程度较大。在适宜pH条件下, 提高灯的功率可有效提高光合细菌的能量获取能力, 从而提升产氢水平。而当pH偏离最适范围时, 灯功率增强的促进作用明显减弱, 表明二者之间存在协同调控关系。此外, 葡萄糖浓度与灯功率之间亦呈现

较强交互作用, 等高线分布呈明显椭圆形。在较低底物浓度下, 提高灯功率有助于增强底物利用效率。而在较高葡萄糖浓度条件下, 过强光照可能引发代谢压力或副产物积累, 从而对产氢过程产生抑制。因此, 两者需在适当范围内匹配以实现最佳效果。

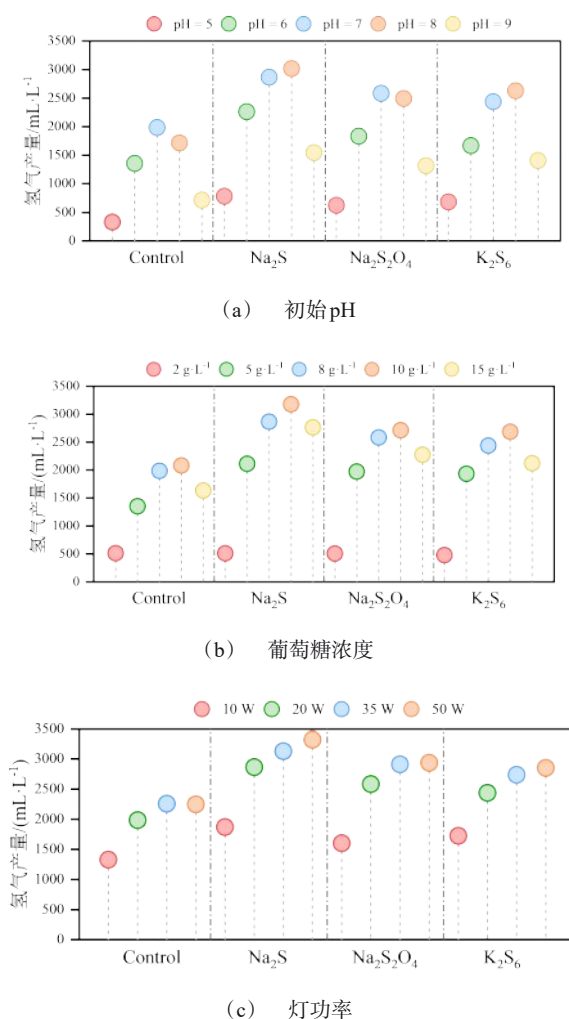


图5 关键参数对产氢性能的影响

Fig. 5 Influence of key parameters on hydrogen production performance

表3 Box-Behnken 响应面实验设计及结果

Table 3 Experimental design and results of box-behnken response surface

实验组	初始 pH	葡萄糖浓度/(g·L ⁻¹)	灯功率/W	累积产氢量/(mL·L ⁻¹)
1	6	5	35	2105.32
2	8	5	35	2656.81
3	6	15	35	2558.14
4	8	15	35	3025.63
5	6	10	20	2358.36
6	8	10	20	3186.82
7	6	10	50	2725.93
8	8	10	50	3426.37
9	7	5	20	2112.53
10	7	15	20	2762.58
11	7	5	50	2688.96
12	7	15	50	3171.27
13	7	10	35	3411.11
14	7	10	35	3477.78
15	7	10	35	3366.67

表4 回归模型的方差分析结果

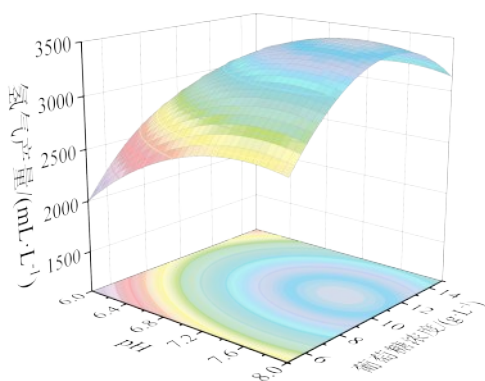
Table 4 Results of variance analysis of the regression model

来源	平方和/10 ⁵	自由度	均方/10 ⁵	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值	显著性
模型	30.33	9	3.37	24.00	0.0014	显著
<i>A</i> 初始 pH	8.35	1	8.35	59.44	0.0006	
<i>B</i> 葡萄糖浓度	4.77	1	4.77	33.99	0.0021	
<i>C</i> 灯功率	3.31	1	3.31	23.60	0.0046	
<i>AB</i>	0.02	1	0.02	0.13	0.7375	
<i>AC</i>	0.02	1	0.02	0.15	0.7138	
<i>BC</i>	0.07	1	0.07	0.50	0.5107	
<i>A</i> ²	3.13	1	3.13	22.31	0.0052	
<i>B</i> ²	10.80	1	10.80	76.91	0.0003	
<i>C</i> ²	1.39	1	1.39	9.89	0.0255	
残差	0.70	5	0.14			
失拟项	0.64	3	0.21	6.81	0.1306	不显著
拟合度 (<i>R</i> ²)	0.9774					
调整拟合度 (<i>R</i> _{adj} ²)	0.9367					

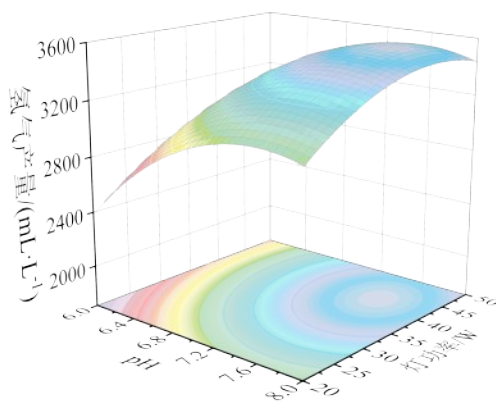
综合三组响应面分析可知，各因素在中等水平范围内更有利于体系性能的协同优化，且交互作用在调控产氢过程

中发挥关键作用。最终确定回归模型预测的最佳条件为：初始 pH = 7.53、葡萄糖浓度 = 11 g·L⁻¹、灯功率 = 42W，

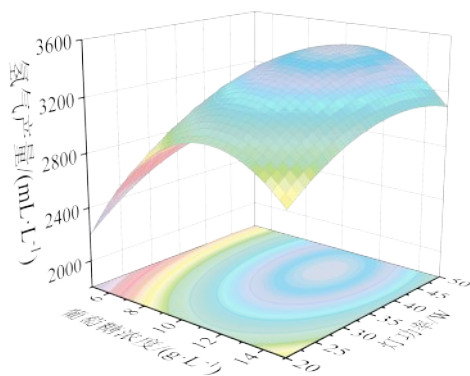
在该条件下模型预测产氢性能达到 最优。



(a) 初始pH与葡萄糖浓度对产氢的响应面及等高线分析



(b) 初始pH与灯功率对产氢的响应面及等高线分析



(c) 葡萄糖浓度与灯功率对产氢的响应面及等高线分析

图6 各因素对产氢性能的响应面及等高线分析

Fig. 6 Response surface and contour analysis of various factors to hydrogen production performance

2.4.3 最佳产氢条件验证

为满足实际应用需求,对生物光发酵产氢条件进行了优化,将初始pH、葡萄糖浓度及灯功率分别设定为7.53、11 g·L⁻¹和42 W。在该最优条件下开展验证实验,并以相同优化条件下未添加SAZVI的SB1003体系(累积产氢量为2403.71 mL·L⁻¹)作为对照组进行比较。结果表明,经3次平行实验测得平均氢气产量为3661.85 mL·L⁻¹。与模型预测值相比,该实测结果落在预测的95%置信区间(3337.61~3814.47 mL·L⁻¹)内。这表明所建立的模型具有良好的预测准确性和可靠性,同时也验证了优化工艺的可行性与稳定性^[29]。

3 结论

(1)本研究通过调控不同硫前驱体,成功构建了具有差异化界面结构的SAZVI材料。结果表明,硫前驱体能够显著调控Fe-S界面的结构特征与化学态分布,从而影响材料的界面反应特性。

(2)基于SAZVI-Na₂S构建的生物杂合体系显著增强了光发酵产氢性能,累积产氢量较对照组提高了44.34%,同时有效改善了体系的发酵动力学行为。进一步通过响应面分析对初始pH、底物浓度及灯功率进行协同优化,在最优条件下体系累积产氢量达到3661.85

mL·L⁻¹,表明该体系具有良好的调控潜力与应用前景。

(3)综合界面结构表征与产氢性能分析可知,Fe-S界面的构建能够有效促进电子迁移与还原力传递,从而强化光合细菌代谢活性与产氢过程。该研究从界面电子传递调控角度提出了一种强化光发酵产氢的有效策略,为高效生物-材料杂合体系的设计与应用提供了理论依据和实践指导。

参考文献

- [1] GALIH PANGESTU M R, RAZZAK S A, UDDIN S. Microbial biomass conversion for hydrogen production: A review [J]. Green Energy and Resources, 2025, 3(3): 100131.
- [2] 屈皓,李玉霞,刘玉香. 生物质光发酵制氢技术研究进展 [J]. 现代化工, 2025, 45(01): 56-61.
QU Hao, LI Yuxia, LIU Yuxiang. Research progress in biomass photo-fermentation hydrogen production technology [J]. Modern Chemical Industry, 2025, 45(01): 56-61.
- [3] TAHIR N, RAMZAN H, NADEEM F, et al. Engineering the microbial-electrochemical interface: synergistic of co-fe nano biochar composites for enhanced electron channelling to alter the metabolic pathway in light-driven biohydrogen production [J]. Biochar, 2026, 8(1): 31.
- [4] SONG Wentao, LIU Yong, WU Yao, et al.

- Single-atom bridges across biotic-abiotic interfaces facilitate direct electron transfer for solar-to-chemical conversion [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 6708.
- [5] ZHANG Hao, LIU Hao, TIAN Zhiquan, et al. Bacteria photosensitized by intracellular gold nanoclusters for solar fuel production [J]. *Nature Nanotechnology*, 2018, 13(10): 900-905.
- [6] YANG Linlin, DONG Yizhe, ZHAO Dong, et al. A Nanobiocatalyst-Driven Hybrid System for Efficient and Sustainable Hydrogen Production via Electron Flow Optimization [J]. *Advanced Materials*, 2025, 37(44): 2508613.
- [7] 陈冠益, 黄加亮, 穆兰, 等. 添加剂调控光合发酵制氢进展与展望 [J]. *太阳能学报*, 2025, 46(05): 1-14.
- CHEN Guanyi, HUANG Jialing, MU Lan, et al. Progress and prospects of additive-regulated photosynthetic fermentation for hydrogen production [J]. *Acta Energiac Solaris Sinica*, 2025, 46(05): 1-14.
- [8] 董晋汝, 徐榕蔚, 刘文凯, 等. 不同剂量 ZVI 对剩余污泥与玉米秸秆共发酵产氢的影响及机制 [J]. *环境科学学报*, 2025, 45(12): 284-293.
- DONG Jinru, XU Rongwei, LIU Wenkai, et al. Impact of different dosage of ZVI on the biohydrogen production of waste activated sludge and corn stover by co-fermentation and mechanism [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2025, 45(12): 284-293.
- [9] BIAN Mengyang, LI Weiming, YU Yingxuan, et al. Enhanced co-production of hydrogen and ethanol from brown algae fermentation by supplementing nano zero-valent iron (nZVI) [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2024, 467: 143035.
- [10] CHENG Qi, LI Qingrui, HUANG Xiaojie, et al. The high efficient Sb(III) removal by cauliflower like amorphous nanoscale zero-valent iron (A-nZVI) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 436: 129056.
- [11] LIN Zishen, LIU Fobang, ZHENG Chunli, et al. Highly efficient removal of Cd(II) in aqueous solution by attapulgiteloaded amorphous zero-valent Iron [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2023, 659: 130776.
- [12] GU Shiyan, ZHAO Haiqiao, KUANG Ruoyu, et al. Biochar-supported sulfidated nanoscale zero-valent iron (S-nZVI@BC): Porous structures synergizing FeS for electron transfer to enhance hydrogen production and long-term stability from food waste dark fermentation [J]. *Surfaces and Interfaces*, 2026, 85: 108652.
- [13] ZHANG Yaru, BIAN Zhaoyong, WANG Feng, et al. In-situ synthesis of FeS nanoparticles enhances Sulfamethoxazole degradation via accelerated electron transfer in anaerobic bacterial communities [J]. *Water Research*, 2025, 273: 123025.
- [14] 高子璇, 曹稳, 魏雯雯, 等. 光合细菌耐钹突变株的构建与产氢特性研究 [J]. *西安交通大学学报*, 2026, 60(8): 1-10.
- GAO Zixuan, CAO Wen, WEI Wenwen, et al. Construction of Ammonium-Tolerant Photosynthetic Bacterial Mutants and Characterization of Hydrogen Production [J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University*, 2026, 60(8): 1-10.
- [15] SISTROM W R. A Requirement for Sodium in the Growth of *Rhodospseudomonas spheroides* [J]. *Microbiology*, 1960, 22

- (3): 778-785.
- [16] XU Jiang, AVELLAN A, LI Hao, et al. Iron and Sulfur Precursors Affect Crystal-line Structure, Speciation, and Reactivity of Sulfidized Nanoscale Zerovalent Iron [J]. *Environmental Science Technology*, 2020, 54(20): 13294-13303.
- [17] LIN Zishen, XU Jiang, ZHU Aibin, et al. Physicochemical Effects of Sulfur Precursors on Sulfidated Amorphous Zero-Valent Iron and Its Enhanced Mechanisms for Cr(VI) Removal [J]. *Langmuir*, 2023, 39(27): 9488-9502.
- [18] JING Ququ, WANG Lixiao, LUO Chenghui, et al. Sulfidated nano zero-valent iron activated peroxymonosulfate for enhanced 2, 4-Dichlorophenol degradation: Performance and mechanism [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2026, 14(2): 121929.
- [19] ZHU Shengnan, YANG Xuemei, ZHANG Zhiping, et al. Tolerance of photo-fermentative biohydrogen production system amended with biochar and nanoscale zero-valent iron to acidic environment [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 338: 125512.
- [20] YANG Linlin, DONG Yizhe, ZHAO Dong, et al. A Nanobiocatalyst-Driven Hybrid System for Efficient and Sustainable Hydrogen Production via Electron Flow Optimization [J]. *Advanced Materials*, 2025, 37(44): 2508613.
- [21] 张立国, 宁艺璇, 刘琦, 等. 初始 pH 对 AQS 介导剩余污泥暗发酵产氢特性的影响 [J]. *环境科学学报*, 2024, 44(09): 311-318.
- ZHANG Ligu, NING Yixuan, LIU Qi, et al. The effect of initial pH on AQS-mediated biohydrogen production from waste activated sludge by darkfermentation [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2024, 44(09): 311-318.
- [22] 高燕, 王海莉, 项园, 等. 废弃石粉负载型非晶零价铁的制备及其去除水中 Cr(VI) 的性能 [J]. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 2025, 59(01): 18-25.
- GAO Yan, WANG Haili, XIANG Yuan, et al. Preparation of amorphous zero-valent iron supported by waste stone powder and its removal of Cr(VI) from water [J]. *Journal of Central China Normal University (Nat.Sci.)*, 2025, 59(01): 18-25.
- [23] YU Yangyang, WANG Yanzhai, FANG Zhen, et al. Single cell electron collectors for highly efficient wiring-up electronic abiotic/biotic interfaces [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 4087.
- [24] WANG Zijuan, GAO Dong, GENG Hao, et al. Enhancing hydrogen production by photobiocatalysis through Rhodospseudomonas palustris coupled with conjugated polymers [J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2021, 9(35): 19788-19795.
- [25] 荆艳艳, 李芳, 王毅, 等. 底物浓度对光合产氢过程动力学的影响 [J]. *河南科学*, 2020, 38(07): 1052-1056.
- JING Yanyan, LI Fang, WANG Yi, et al. Effect of Substrate Concentration on Process Kinetics of Photo-Hydrogen Production [J]. *Henan Science*, 2020, 38(07): 1052-1056.
- [26] JIANG Qishi, LI Yanjing, WANG Minmin, et al. Near-Theoretical Solar-Powered Hydrogen Production From a Photosensitive MOF Nanozyme-Microbe Hybrid [J]. *Advanced Functional Materials*, 2026, 36(41): e75000.

- [27] SASIKALA K, RAMANA C V, RAGHUVeer RAO P. Environmental regulation for optimal biomass yield and photoproduction of hydrogen by *Rhodospirillum rubrum* O.U. 001 [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 1991, 16(9): 597-601.
- [28] 祁林峰, 叶喜林, 汪汉正, 等. 生物炭强化 *Clostridium pasteurianum* 产氢过程优化及作用机制研究 [J]. 高校化学工程学报, 2025: 1-11.
- QI Linfeng, YE Xilin, WANG Hanzheng, et al. Optimization of biohydrogen conditions and mechanism of biochar by *Clostridium pasteurianum* [J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2025: 1-11.
- [29] FAROOQ U, ZAHRA S T, NAJEEB J, et al. Harnessing the potential of green synthesized Co-Fe-ZnS nanocomposites for successive solar-driven degradation of amoxicillin, hydrogen production, and CO₂ reduction: Optimization of reaction parameters by response surface methodology [J]. Sustainable Materials and Technologies, 2025, 44: e01377.